Aus dem Hygiene-Institut der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz
Direktor: Prof. Dr. H. Kliewe

Experimenteller Beitrag zur Frage der thermischen Desinfektion virushaltigen Waschgutes

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde
einer
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Dr. med. Wolfgang Koberg
aus Beckum Bez. Münster

7240

1962

Aus dem Hygiene-Institut der Johannes Gutenberg-Universität Mainz
Direktor: Prof. Dr. H. Kliewe

EXPERIMENTELLER BEITRAG ZUR FRAGE DER THERMISCHEN DESINFEKTION VIRUSHALTIGEN WASCHGUTES

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Dr. med.
Wolfgang Koberg
aus
Beckum Bez. Münster

1962

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Dekan: Prof. Dr. K. Brecht

Berichterstatter: Prof. Dr. R.-E. Bader (Prof. Dr. H. Kliewe)

Meiner Braut

160/62

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41549608_0010

Inhaltsverzeichnis

Seite

I. Allgemeiner Teil

A. Die Bedeutung der Virusdesinfektion 1

1. Beschränkter Umfang der Desinfektionsmaßnahmen durch Fehlen der eigenständigen Vermehrung 1

2. Angriffspunkte der Virusdesinfektion 2

a) Blut 2

b) Kot 2

c) Eiter 2

d) Sputum 2

B. Die Bedeutung der Desinfektion virushaltiger Wäsche 3

C. Die Problematik einer solchen Wäschedesinfektion 3

D. Methoden zur experimentellen Auswertung von Desinfektionsversuchen mit Viren 5

E. Thermoresistenz der abzutötenden Viren 6

F. Fragestellung bei der vorliegenden Arbeit 7

G. Gegenstand unserer Untersuchungen 8

II. Experimenteller Teil 10

A. Die artifizielle Verunreinigung der Wäsche für Modellversuche 10

B. Das Verhalten der so beschmutzten Wäsche bei den verschiedenen Waschversuchen 10

1. Methodik 11

Seite

2. Waschprozeß mit Leitungswasser 11

a) Aussehen des Waschgutes 11

a_1) vor dem Waschprozeß 12

a_2) nach dem Waschprozeß 12

b) Untersuchung des Stickstoffgehaltes von Flotte und Waschgut vor, während und nach der Waschzeit 14

c) Nachweis der in der Flotte vorhandenen Aminosäuren 18

d) Untersuchung der Flotte nach dem Waschprozeß 19

d_1) Sediment 19

d_2) Suspension 20

d_3) mikroskopisch 21

3. Waschprozeß mit Zusatz von Stella-Seifenpulver 21

a) Aussehen des Waschgutes nach dem Waschen 21

b) N_2-Bestimmung durch Mikro-Kjeldahl 23

c) Fotografischer Nachweis von Flottenpartikeln 25

4. Waschprozeß mit Zusatz von Sunex, Fettlöser und Nurpur-Seifennadeln 25

a) Aussehen des Waschgutes nach dem Waschen 25

b) Erfassung des Stickstoffgehaltes 26

c) Bestimmung der Aminosäuren in der Flotte 28

d) Vergleich der Flotten in den vier Stadien 29

5. Waschprozeß mit Zusatz von Enzym 1500, Olitexol und Telaplex 29

a) Stickstoffverschiebungen 30

b) Nachweis des gehäuften Auftretens von Aminosäuren 32

Seite

C. Tierversuche 33

1. Methodik 33

a) Auswahl des infektiösen Materials 33

b) Verarbeitung der Virusarten 33

c) Keimträger 33

d) Infektion des Waschgutes 34

e) Waschprozeß 34

f) Verimpfung auf die Versuchstiere 34

g) Beschaffenheit des Tiermaterials 35

h) Auswertung der Ergebnisse 35

i) Infektiositätskontrolle des Keimträgers 35

2. Untersuchungen mit dem Herpes-Virus 35

a) Verdünnungskontrolle (ID 50) 35

b) Waschprozeß mit Leitungswasser 37

b_1) Kollektiv von 80 Tieren. Injektion i.c. 37

b_2) Kollektiv von 130 Tieren. Injektion i.c. und i.m. 39

c) Waschprozeß mit Stella-Seifenpulver 40

d) Waschprozeß mit Sunex, Fettlöser und Nurpur-Seifennadeln 43

e) Waschprozeß mit Enzym 1500, Olitexol, Telaplex und Nurpur-Seifennadeln 44

3. Untersuchungen mit dem Stamm Theiler 48

a) Waschprozeß mit Leitungswasser 48

b) Waschprozeß mit Stella-Seifenpulver 49

c) Waschprozeß mit Sunex, Fettlöser und Nurpur-Seifennadeln 51

c_1) leichter Verschmutzungsgrad 51

c_2) schwerer Verschmutzungsgrad 51

d) Waschprozeß mit Enzym 1500, Olitexol, Telaplex und Nurpur-Seifennadeln 54

4. Desinfektions-Waschversuche mit dem Encephalomyocarditis-Virus (EMC) 57

Seite

5. Untersuchungen am Influenza-Virus 57

a) Methodik 57

a_1) Beschaffenheit des Eimaterials 57

a_2) Infektion und Verunreinigung des Läppchens 57

a_3) Waschprozeß und Kontrollentnahmen 58

a_4) Verimpfung auf die Eier 59

a_5) Infektiositätskontrolle 59

a_6) Hirst-Test 60

a_7) Verteilung der Stichproben 60

b) Ergebnisse an Hand einer Tabelle 61

c) Auswertung der Versuchsresultate 63

III. Diskussion des Desinfektionseffektes 64

A. beim Waschprozeß mit Leitungswasser 64

B. beim Waschprozeß mit Stella-Seifenpulver 64

C. beim Waschprozeß mit Sunex, Fettlöser und Nurpur-Seifennadeln 65

D. beim Waschprozeß mit Enzym 1500, Olitexol, Telaplex und Nurpur-Seifennadeln 65

IV. Zusammenfassung 67

V. Literatur 69

Die Frage der Desinfektion bakteriell verunreinigten Waschgutes ist seit dem Ende des 19. Jahrhunderts sehr häufig zum Gegenstand experimenteller Untersuchungen und Veröffentlichungen gemacht worden. Daraus resultiert auf diesem Gebiete ein umfangreiches Wissen für die Prophylaxe und Therapie von Infektionskrankheiten. Bei den durch Viren verursachten Erkrankungen dagegen stehen wir noch vielen ungelösten Fragen gegenüber (60, 61, 94), von denen der Problemkreis der thermischen Desinfektion virushaltiger Wäsche einen experimentellen Beitrag erfahren soll.

Im Vergleich zur Bakteriendesinfektion stößt man bei der Entseuchung von mit Viren verunreinigten Wäschestücken zunächst auf einen grundsätzlichen Unterschied. Im letzteren Falle können nämlich die Desinfektionsmaßnahmen nur in wesentlich beschränkterem Umfange Anwendung finden. Der Grund hierfür ist in erster Linie in dem Fehlen der eigenständigen Vermehrung von Viren zu suchen. Nach Untersuchungen von HERZBERG (42) haben alle bisher bekannten Virusarten für ihre Existenz und Vermehrung "die Chromosomenzelle oder das Bakterium zur Voraussetzung". STAUDINGER (zit. nach GUNDEL (50)) drückt es folgendermaßen aus: "Nur wo es Leben gibt, kann es Virus geben". WEIL (90) bezeichnet alle Viren schlechthin als obligat intrazelluläre Körper". Während Bakterien nicht nur durch ihre Existenz überhaupt, sondern vor allem durch ihre Fähigkeit, sich unabhängig von anderen Organismen auf unbelebten Substanzen zu vermehren, eine große Gefahr darstellen, finden wir darin einen grundsätzlichen Unterschied zu den Viren (9, 85, 91). Da diese keine eigenen Enzyme des Energiestoffwechsels haben (89) und aus diesem Grunde auf einen Wirtsorganismus angewiesen sind (28), ist eine Zunahme der Virenzahl auf Nahrungsmitteln, Abfällen, Abwässern etc.

ausgeschlossen (72). Somit kann im optimalen Falle nur die Menge an Erregern, die ausgeschieden wurde, übertragen werden. Die Folge davon ist, daß die ganze Anzahl der keimfrei zu haltenden Substanzen wie Nahrungsmittel, Konserven, Lagerware, aber auch Textilien, Wolle, Felle, Leder usw. für die Virusdesinfektion nicht in Frage kommen und damit eine wirtschaftliche Bedeutung ausgeschlossen ist.

Die Angriffspunkte der Virusdesinfektion erstrecken sich demnach auf die Aus- und Abscheidungen (53) bzw. die darin enthaltenen pathogenen Virusarten von Viruskranken und Virusträgern. Hierbei kommen Blut (63, 77), Kot (10, 84), Eiter (39, 52), Sputum (36, 38) und Urin (16) in Betracht, die nicht nur als Aufenthaltsort, sondern vielmehr als umhüllendes Material eine große Rolle spielen (69).

Mit dem Blut werden solche Viren ausgeschieden, die sich während einer Virämie im Kreislauf befinden: Hepatitis-, Influenza-Viren etc. Das gilt im besonderen Falle für offene Verletzungen und die häufig damit verbundene Verschmutzung von Verbandsstoffen und Kleidungsstükken mit virushaltigem Material. In jüngster Zeit ist besonders die Frage nach der Desinfektion von mit Blut verunreinigten Textilien Poliomyelitiskranker in den Vordergrund des Interesses gerückt, da die spinale Kinderlähmung anfangs eine virämische Erkrankung ist (10).

Bei der Stuhldesinfektion werden in erster Linie Enteritis-Viren und sonstige Enteroviren betroffen, die größtenteils zur neurotropen Gruppe gehören, wie Poliomyelitis-, ECHO- und Coxsackie-Viren.

Bei Hauteffloreszenzen können mit dem Sekret und Eiter als Inhalt von Pusteln Herpes-Viren austreten. Aber auch Pockenviren und viele andere wurden durch den elektronenoptischen Nachweis von typischen Elementarkörpern in Pusteln aufgefunden (68).

Das Sputum kann - selbst in Form von Hustentröpfchen - alle pneumotropen Viren beherbergen. Allerdings sind die Anwendungsmöglichkeiten der Desinfektion stark eingeengt, wenn es sich um solche Viruserkrankungen

handelt, die durch Tröpfcheninfektion unmittelbar vom kranken auf den gesunden Menschen übertragen werden, wie es z. B. bei Influenza-(73) und APC-Viren der Fall ist. Aber auch durch Verstäubung von eingetrocknetem virushaltigen Material (z. B. Ornithose-Viren) können pathogene Viren verschleppt werden.

Wenn auch die Virusdesinfektion nicht in so ausgedehntem Maße stattzufinden braucht, wie es bei bakteriellen Verunreinigungen der Fall ist, so ist sie dennoch von großer Bedeutung. Gerade die prophylaktischen Maßnahmen verdienen bei Viruserkrankungen eine besondere Beachtung, da uns kausale therapeutische Möglichkeiten bis jetzt noch völlig fehlen (28, 29, 30, 76, u.a.). Das Kernproblem bei der thermischen Desinfektion virushaltigen Waschgutes liegt darin, daß einerseits die in eiweißhaltigen Ballaststoffen eingebetteten Viren Temperaturen von über $+100^{\circ}$ C ohne ausreichende Inaktivierung vertragen können und andererseits eine Einwirkzeit der erforderlichen Desinfektionstemperatur von ca. $+100^{\circ}$ C über 30 bis 60 Minuten die Empfindlichkeitsgrenze unserer gebräuchlichen Textilien überschreitet (51, 52). Daher muß man sich in unserem Falle bei der Wäschedesinfektion oft damit begnügen, die schädigende Wirkung des lebenden Virus maximal zu reduzieren, besonders wenn Wundsekret, Eiter, Auswurf, Stuhl etc. der Desinfektionseinwirkung den Weg zu den pathogenen Keimen weitgehend versperren (50). Trotz umfangreicher Versuche, virushaltige Verunreinigungen an Textilien durch andere physikalische oder chemische Entseuchungsverfahren unschädlich zu machen (2, 41, 62), ist es bisher nicht gelungen, die klassische Methode der thermischen Wäschedesinfektion zu ersetzen. Auch die von PUTNAM (70) erörterte Möglichkeit der Bestrahlung des infektiösen Materials mit ultraviolettem Licht oder ionisierten Strahlen hat sich infolge technischer und wirtschaftlicher Schwierigkeiten nicht durchsetzen können. Das gleiche gilt für die Behandlung des Waschgutes mit Röntgenstrahlen (83).

Bei der Untersuchung über den Desinfektionseffekt verschiedener thermischer Verfahren finden sich die ersten Schwierigkeiten bei der Bestim-

mung der erforderlichen Desinfektionstemperatur in ausgedehnten Thermoresistenzunterschieden selbst zwischen verschiedenen Stämmen der gleichen Virusart. Außerdem sind alle Viren sogenannte "obligate Zellparasiten" (71). Als solche lassen sie sich nicht in Kulturen auf avitalen Nährböden züchten (72), da sie zum Zwecke der Vermehrung auf das Vorhandensein lebenden Gewebes angewiesen sind. Demgegenüber kann man die Wirkung eines jeden thermischen Desinfektionsverfahrens bei Bakterien ohne weiteres experimentell dadurch nachweisen, daß man das pathogene Agens nach dem Entseuchungsprozeß auf künstliche Nährböden überimpft und am Wachstum feststellt, ob nach der schädigenden Einwirkung noch vermehrungsfähige Erreger persistieren (8).

Auf der Suche nach einem für virushaltiges Waschgut ausreichenden thermischen Desinfektions-Waschverfahren müssen wir immer wieder feststellen, daß die Wärmeempfindlichkeit der Viren ganz von der Natur der sie umhüllenden Medien abhängt, besonders wenn es sich um stark eiweißhaltige Ballaststoffe handelt.

Für das von ihm untersuchte Virus fand STEWART (zit. nach 9), daß es nach 90 min bei + 35° C hitzeinaktiviert war, während JULIANELLE und HARRISON (47) für das gleiche Virus nachweisen konnten, daß es in Blut eingebettet eine Desinfektionstemperatur von + 37° C über 24 std erforderlich machte.

Da durch eine große Zahl von experimentellen Untersuchungen bewiesen werden konnte, daß die in den meisten Krankenanstalten heute noch angewandten Desinfektions-Waschverfahren zu keiner Inaktivierung des an dem Waschgut haftenden pathogenen Materials führen (75), ist es notwendig, die bisherigen Methoden zu verbessern und zu vervollständigen. Zunächst ist es naheliegend, den oft angestrebten chemischen Vordesinfektionseffekt durch eine Erhöhung der Konzentration der Entkeimungsmittel erreichen zu wollen. Nach Feststellungen von BIEN (6) führt diese Maßnahme jedoch zu erheblichen Schwierigkeiten in der Abwasseraufbereitung. Meist handelt es sich nämlich um eine Vergrößerung der Konzentration an Phenolen oder Kresolen, die zu einer weitgehenden Hemmung der Faulschlammbildung in den Kläranlagen und der biologi-

schen Abwasseraufbereitung führt. Auch bei der kombiniert chemothermischen Desinfektionswäsche läßt sich die Temperatur der Flotte zur Steigerung der Desinfektionskraft nicht einfach heraufsetzen, weil ein solches Vorgehen das Einbrennen des eiweißhaltigen Wäscheschmutzes (7) in die Textilfaser begünstigt.

Um nach der Einwirkung eines Desinfektionsverfahrens die betroffenen Viren auf ihre Infektiosität und Virulenz und damit auf ihre Lebens- und Vermehrungsfähigkeit untersuchen zu können, stehen uns die folgenden drei Beobachtungstechniken zu Verfügung:

1. Vermehrung von Viren in vitro in sogenannten Gewebskulturen
2. Untersuchungsmethode mit Eihautkultur
3. Tierversuch

Da es keine weiteren Züchtungsmöglichkeiten gibt, z. B. auf künstlichen Nährböden, muß sich die Virusforschung auf diese drei Methoden beschränken (67). Während sich das Verfahren Nr. 1 vorzüglich zur Testung und Isolierung der meisten Viren eignet, wird die Eihautkultur zur Herstellung von Virusimpfstoffen angewandt. Die Grundlage für fast alle Gebiete der Virusforschung bildet jedoch der Tierversuch, der in vielen Fällen als einzige Möglichkeit zum Nachweis von Viren übrig bleibt. Er hat damit in seiner Anwendbarkeit die größte Breite, wenn er auch bei allen rein menschenpathogenen Viren und denen ohne geeignete Versuchstiere versagt (71).

Erhebliche technische Schwierigkeiten bei der Feststellung eines Desinfektionseffektes müssen wir auch darin sehen, daß pathogenes Virusmaterial sich normalerweise nicht aus den natürlichen eiweißhaltigen Ballaststoffen in reiner Form extrahieren läßt. Auf dieses Problem stößt man bei der Benutzung virushaltigen Materials, sei es daß es aus den Organen viruskranker Versuchtstiere, sei es daß es aus Gewebs- oder Eihautkulturen stammt. Solche virusfremden Eiweiße können in größerer Menge die Untersuchungsresultate oft erheblich entstellen. Da es aber nicht zu umgehen ist, daß die die pathogenen Keime umschließenden eiweißreichen Ballaststoffe auf die Viren die Wirkung eines Schutzman-

tels gegen physikalische Einwirkungen ausüben, können die getesteten thermischen Desinfektionsverfahren nur nach ihrem Abtötungseffekt auf verunreinigtes Virusmaterial beurteilt werden. Auf Grund dessen lassen sich mit der oben genannten Methode keine Rückschlüsse auf die Thermoresistenz des reinen Virus gegen die einwirkenden Desinfektionsmaßnahmen ziehen, zumal unter anscheinend gleichen Versuchsbedingungen wiederholte Experimente oft nur sehr wenig kongruente, wenn nicht sogar sich widersprechende Ergebnisse liefern.

Der Thermoresistenz von Viren kommt für die Virusforschung eine erhebliche Bedeutung zu, weil Fragen über eine ausreichende thermische Inaktivierung von Viren nur dann hinreichend beantwortet werden können, wenn man die Hitzeempfindlichkeit der verschiedenen abzutötenden Virusarten genau kennt. Daher sind Untersuchungen über die Widerstandsfähigkeit von Viren im Hinblick auf physikalische und chemische Desinfektionsverfahren in der jüngsten Zeit besonders im Zusammenhang mit der Spritzendesinfektion bei der Serumhepatitis häufig zum Gegenstand von Untersuchungen und Diskussionen gemacht worden (32). Da der Keimabtötungseffekt der verschiedenen Methoden bei den einzelnen Virusarten erhebliche Unterschiede zeigt, darf man in keinem Falle einer noch nicht eigens getesteten Virusart ein den untersuchten Erregern analoges Verhalten gegenüber der viruziden Einwirkung zuschreiben. Den physikalischen Desinfektionsverfahren mit Hitze setzt die Vielzahl der tier- und menschenpathogenen Viren im Gegensatz zu den Bakterien nur einen relativ geringen Widerstand entgegen. Während Temperaturen von -20° C und tiefer über längere Zeit die meisten Virusarten nicht schädigend beeinflussen können, hat Hitze von $+100^{\circ}$ C und mehr auf dieselben Keime schon nach wenigen Minuten eine abtötende Wirkung. Gelegentlich genügt schon die relativ niedrige Brutschranktemperatur von $+37^{\circ}$ C, um eine partielle Inaktivierung herbeizuführen. Als Beispiele mögen die Abtötungszeiten und -temperaturen für folgende Virusarten dienen: Pocken-, Herpes- und Lyssa-Virus etwa 5 min $+56^{\circ}$ C (15), Poliomyelitis-Virus 20 min $+60^{\circ}$ C, Lymphogranuloma-Virus 60 min $+60^{\circ}$ C (71).

Da die Ergebnisse unserer Versuche für die Praxis Verwendung finden sollen, wird in der vorliegenden Darstellung nicht die Thermoresistenz von gereinigten Viren berücksichtigt, weil die Viren sich im Normalfall in eiweißhaltigen Medien aufhalten. Das in dieser Arbeit zur Untersuchung gelangte Mäuseencephalomyelitis-Virus (Theiler-Stamm) gehört nach GÖNNERT und BOCK (31, 32) zu den thermoresistentesten tierischen Virusarten. Während das Virus durch eine 2 min dauernde Erhitzung in siedendem Wasser abgetötet wird, kann bei Erwärmung auf + 90° C noch infektiöses Virus nachgewiesen werden (12). Durch eine Einwirkzeit von 60 min und länger bei einer Erwärmung auf + 58° C erfährt der Stamm Theiler noch keine Inaktivierung (31). Außerdem erleiden in geronnenem Eiweiß eingebettete Viren bei thermischen Desinfektionsversuchen bei weitem nicht die Infektiositätsverminderung wie beispielsweise in phys. NaCl-Lösung suspendierte Erreger. Das Encephalomyocarditis - Virus (EMC) ist nach einer 2 min dauernden Einwirkung von +180° C völlig inaktiviert, während es + 60° C bis zu 1 std überleben kann. Influenza-Viren sind in Suspensionen aus infizierten Mäuselungen auffallend thermostabil und überleben selbst eine Temperatur von +120° C bei einer Einwirkzeit von 60 min (12). Eine annähernd gleiche Hitzeresistenz ist beim Herpes-Virus zu beobachten.

Die extrem hohe Thermoresistenz der abzutötenden Viren ist in erster Linie auf das eiweißhaltige Milieu zurückzuführen, in dem sich die Erreger während der thermischen Desinfektionseinwirkung befinden. Nach der einschlägigen Literatur genügen für reine Viren schon Inaktivierungstemperaturen von + 55° bis + 60° C für 30 bis 60 min. Selbst das als außerordentlich thermostabil bekannte Theiler-Virus soll nach BOURDILLON (15) durch einen 30 min dauernden Aufenthalt im Wasserbad von + 56,5° C abgetötet werden. LAWSON und MELNICK (58) fanden dagegen 1947, daß Inaktivierungstemperaturen von + 65° C bis + 70° C selbst bei einer Expositionszeit von 30 min nicht genügen.

Auf der Suche nach einem ausreichenden thermischen Desinfektionsverfahren für virusinfiziertes Waschgut sind wir mit BINGEL und

ENGELHARDT (10) der Meinung, daß Keimabtötungsversuche mit gereinigtem Virusmaterial bei unserer Fragestellung ungeeignet sind. In der Regel finden sich die Viren in praxi in eiweißhaltige Substanzen eingehüllt, die größtenteils aus Exkreten und Ausscheidungen befallener Organismen stammen. Um also falsche Resultate zu vermeiden, muß man die Viren so, wie sie als Infektionsstoffe in der Natur vorkommen, und nicht in gereinigter Form einem thermischen Desinfektionsprozeß unterwerfen (8). Da wir uns bei den vorliegenden Untersuchungen speziell für die Desinfektion virusinfizierter Wäsche interessieren, haben wir folgende zwei Fragen an den Anfang unserer Experimente gestellt:

1. Was leisten die üblicherweise benutzten Waschverfahren bei virushaltigem Waschgut?
2. Gelten für virushaltige Verschmutzungen dieselben Regeln wie bei mit Bakterien verunreinigter Wäsche, d.h. werden Viren in gleicher Weise wie Spaltpilze durch Ballaststoffe vor thermischen Einwirkungen geschützt?

Es sollen an dieser Stelle nicht die Übertragungsmöglichkeiten virushaltiger Wäsche diskutiert werden. Unbedingt erforderlich ist jedoch, daß Infektionswäsche, die sowieso einem Desinfektionsprozeß unterzogen wird, nicht nur im Hinblick auf bakterielle, sondern auch auf virushaltige Verunreinigungen genügend desinfiziert wird. Das wird aber nicht erreicht, wenn man, wie es tatsächlich in der Praxis geschieht, die für bakterienverschmutztes Waschgut geeigneten Waschverfahren kritiklos auch für die Desinfektion von mit Viren verunreinigten Textilien heranzieht (76).

Wegen der Empfindlichkeit der Fasern werden Wäschestücke meistens thermisch desinfiziert; daher interessiert uns auch im wesentlichen die thermische Resistenz der Viren. Schon aus der Übersicht L.E. ist leicht ersichtlich, daß auch für die Viren die Behaftung mit Ballaststoffen die entscheidende Rolle bei ihrer hohen Thermostabilität spielt. Da die Daten über die Widerstandsfähigkeit der Viren gegen thermische Einflüsse bekannt sind, haben wir uns zunächst experimentell der Frage zugewandt,

was die heute zur Verfügung stehenden Verfahren der Aufbereitung der Wäsche leisten. Dabei ist sowohl die Art der Verunreinigung im Hinblick auf die chemische Zusammensetzung der Ballaststoffe als auch das Verhalten der so beschmutzten Wäsche gegenüber den gebräuchlichen Desinfektions-Waschverfahren von Bedeutung. Im weiteren Verlauf der Untersuchungen soll das Waschgut vor, während und nach dem Waschprozeß makroskopisch und mikroskopisch untersucht werden, und gleichzeitig sollen Aufnahmen der Waschflotte in den gleichen Intervallen zur Darstellung gebracht werden. Außerdem wurde versucht, eventuelle Eiweißabbauvorgänge während der Waschzeit durch Feststellung des Stickstoffgehaltes von Flotte und Waschgut vor, während und nach dem Waschprozeß und durch den Nachweis der in bestimmten Abständen in der Flotte vorhandenen Aminosäuren mit Hilfe der alkoholischen Titration zu erfassen. Im abschließenden Tierversuch wird der Desinfektionseffekt des thermischen Verfahrens mit den untersuchten Waschsubstanzen durch Überimpfen von Flotte und Waschgut auf Versuchstiere und ihr Verhalten danach beurteilt. Die Ergebnisse der Influenza-Versuche stammen aus einer Beobachtungsserie mit Eihautkulturen.

II. Experimenteller Teil

An anderer Stelle wurde bereits darauf hingewiesen, daß der Keimabtötungseffekt eines thermischen Desinfektions-Waschprozesses im wesentlichen davon abhängt, wieweit die heute gebräuchlichen Verfahren dieser Art in der Lage sind, das infektiöse Agens seines schützenden Ballaststoffmantels zu berauben. Darunter verstehen wir in erster Linie die Aufschlüsselung der Eiweißhüllen und ihre Zersplitterung bis zu den niedrigsten Bausteinen in Form der Aminosäuren. Um den Verlauf dieser Abbauvorgänge in seiner Intensität erfassen zu können, haben wir zunächst Modellversuche angestellt, an denen unabhängig von einer thermischen Desinfektionswirkung der Weg und die jeweilige Stärke der Abbauprozesse gezeigt werden soll. Zur Beurteilung dieser Vorgänge ist es zunächst von Interesse zu erfahren, in welcher Art die Verunreinigung der Wäschestücke artifiziell vorgenommen wurde. Für die Modellversuche wurden Leinenläppchen von der Größe 3 mal 15 cm in jeweils 5 ml Meerschweinchenblut getränkt und 24 std luftgetrocknet. Nach dieser Zeit gaben wir die so präparierten Stoffläppchen in eine mit P_2O_5 beschickte Gefriertrocknungsanlage (Neophilisator "Textor"). Anschließend verteilten wir das Blut mit Sandpapier zu einer gleichmäßigen Kruste. In dieser ersten Versuchsserie erfolgte die Verunreinigung ausschließlich mit Blut als Eiweißrepräsentant.

Von den in dieser Form artifiziell beschmutzten Stoffläppchen wurden insgesamt 4 Stück hergestellt. Hierauf unterzogen wir sie verschiedenen Waschversuchen mit:

1. Leitungswasser,
2. Leitungswasser mit Zusatz von Stella-Seifenpulver,
3. Leitungswasser mit Zusatz von Sunex, Fettlöser und Nurpur-Seifennadeln,
4. Leitungswasser mit Zusatz von Enzym 1500, Olitexol und Telaplex.

Für die Waschprozesse Nr. 1 bis 3 kam folgende Versuchsmethodik zur Anwendung. Von den ursprünglich 15 cm^2 großen, mit getrocknetem Blut verunreinigten Stoffläppchen wurden zunächst 3 cm^2 für die Stickstoffuntersuchung nach KJELDAHL (43, 93) (s.S. 14) abgetrennt. Der Rest des Läppchens mit einer Größe von 12 cm^2 wurde dann dem jeweiligen Waschprozeß unterworfen. Dieser gliedert sich bei sämtlichen vier Verfahren in Vorwäsche, Klarwäsche und Nachspülung. Im Rahmen der Vorwäsche brachten wir 300 ml Leitungswasser und das darin befindliche 12 cm^2 große, verunreinigte Waschgut unter ständigem Rühren in 10 min auf eine Temperatur von +40° C. Nach einer Einwirkzeit von 7 min bei +40° C entnahmen wir das Stoffläppchen dem Waschkolben und trennten weitere 3 cm^2 der Gesamtfläche zum Zwecke der Stickstoffbestimmung ab. Von der Flotte wurden 35 ml entnommen, auf deren Weiterverarbeitung wir auf Seite 15 eingehen. Die restlichen drei Fünftel des Waschgutes wurden wieder in den Kolben gegeben und weitere 8 min im Wasserbad von +40° C bewegt. Hiernach erfolgten die gleichen Entnahmen von Flotte und Waschgut. Im weiteren Verlauf des Waschprozesses wurde der gesamte Kolbeninhalt unter ständigem Rühren in 5 min auf +80° C erhitzt und 5 min auf dieser Temperatur gehalten. Dann kam es wieder zu den entsprechenden Entnahmen von 35 ml Flotte und 3 cm^2 Leinenstreifen und ebenso nach einer Einwirkzeit von 15 min bei +80° C. Auf die bei den gebräuchlichen thermischen Desinfektions-Waschverfahren ansich erforderliche Nachspülung wurde bei unseren Modellversuchen verzichtet, da dieser selbstverständlich keine weitere Eiweißspaltfähigkeit zugesprochen werden kann.

Vor der Besprechung des Waschprozesses mit Leitungswasser soll an Hand einiger photographischer Darstellungen das Aussehen des Waschgutes nach der artifiziellen Verunreinigung mit Meerschweinchenblut gezeigt werden.

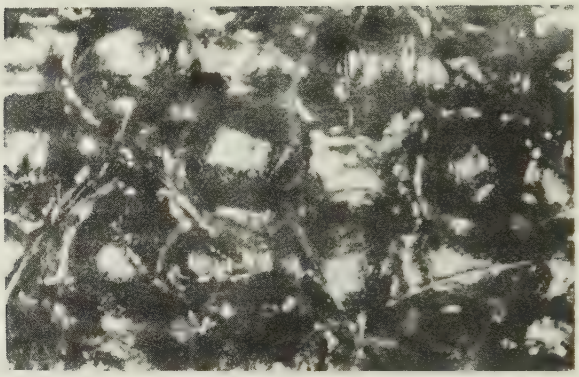

Abb. 1 Mit Blut beschmutztes Leinenläppchen vor dem Waschprozeß

Abb. 1 läßt einen Ausschnitt von einem mit Meerschweinchenblut getränkten Leinenläppchen nach der Gefriertrocknung und gleichmäßigen Verteilung der Verunreinigungen in einer 20-fachen Vergrößerung erkennen. Größere Schmutzpartikel befinden sich an den Knoten und Überkreuzungsstellen der Fasern. Das ganze Maschenwerk ist von einem hauchdünnen Fibrinfilm überzogen, der besonders zwischen den einzelnen Fäden sichtbar wird.

Unter dem Auflichtmikroskop wurde bei 50-facher Vergrößerung die Abb. 2 vom Waschgut nach dem Waschprozeß hergestellt. An dem Stoffläppchen selbst wurde durch mechanische Einflüsse nichts verändert. Die deutlich gesprenkelte, bräunliche Verfärbung der Fasern stammt von irreversiblen Einbrennflecken des Eiweißes durch Hitzekoagulation bei + 80° C. Der Fibrinüberzug läßt sich in gleicher Weise darstellen

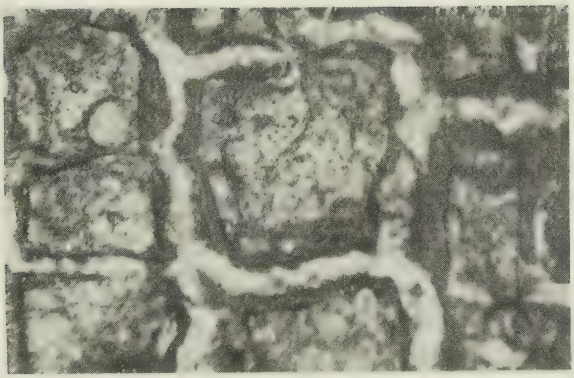

Abb. 2 Das gleiche Waschgut nach dem Waschprozeß mit einfachem Leitungswasser.

wie auf der Abb. 1. Das Blut wurde durch das Waschen nur oberflächlich und grob aus den Maschenfurchen gespült.

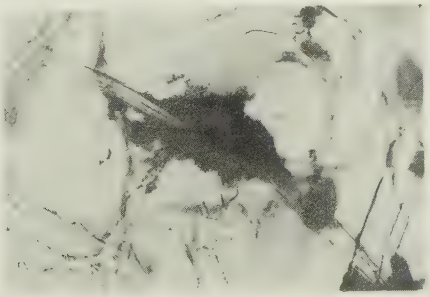

Abb. 3 Textilfaser nach dem Waschprozeß. Vergr. 100 : 1

Auf der Abb. 3 ist ein Zupfpräparat vom Waschgut nach dem Waschprozeß dargestellt. Der Abbildungsmaßstab beträgt 100 : 1. Auf der von

links oben nach rechts unten diagonal durch das Foto verlaufenden Textilfaser befindet sich in der Mitte zirkulär eine annähernd spindelförmige Manschette aus einer bluthaltigen Verunreinigung. Wenn sich also nach dem Waschprozeß noch eine Unzahl solcher Eiweißnester auf dem Waschgut befindet, so ist es leicht verständlich, daß eine große Menge pathogener Viren in diesen Ballaststoffklumpen einen idealen Schutz vor thermischen Einflüssen findet. An der Peripherie der Verschmutzung lassen sich deutlich kleine Abstände zwischen den einzelnen Eiweißpartikeln nachweisen. Wahrscheinlich gilt diese Beobachtung auch für den ganzen Blutkomplex und ist nur bei der zweidimensionalen Darstellung aus projektorischen Gründen nicht erkennbar.

Um feststellen zu können, ob unter dem Einfluß des Waschverfahrens tatsächlich die eiweißhaltigen Ballaststoffe auf dem Waschgut gespalten und abgebaut werden und dabei in die Flotte abwandern, und um weiter mit einem Bezugssystem für das Ausmaß eines solchen Abbaues die verschiedenen Waschmethoden in Relation zueinander setzen zu können, haben wir uns der Miktromethode nach KJELDAHL (43) bedient. Durch sie läßt sich der Gesamtstickstoffgehalt einer Substanz oder Lösung feststellen und damit die Menge des Gesamteiweißes des untersuchten Materials errechnen.

Tab. 1: Untersuchung des Stickstoffgehaltes von Flotte und Waschgut vor, während und nach der Waschzeit

a) Waschgut:

Vor dem Waschprozeß:	4,66	4,71	4,61	4,66
nach 7' 40°:	8,80	8,90	8,92	8,87
nach 15' 40°:	8,85	8,89	8,80	8,84
nach 5' 80°:	9,90	9,92	9,88	9,90
nach 15' 80°:	9,53	9,58	9,53	9,55

Leerwert: 9,92 Faktor: 0,993

Bei der Stickstoffbestimmung des trockenen, mit Blut gleichmäßig verunreinigten Stoffläppchens hatte dieses ein Gewicht von 19,15 mg/cm^2. Der Titrationsmittelwert von 4,66 spricht für einen relativ hohen N_2-Gehalt, der jedoch bereits nach 7 min dauerndem Rühren im Wasserbad von + 40° C deutlich abnimmt. Eine weitere Verringerung des Stickstoffwertes erfolgt bei einer Erhöhung der Flottentemperatur auf +80° C nach einer Gesamteinwirkzeit von 35 min. Die letzte Entnahme dagegen zeigt wiederum einen leichten N_2-Anstieg, der wahrscheinlich darauf zurückzuführen ist, daß durch Hitzekoagulation des in der Flotte befindlichen Eiweißes dieses sich in größeren Partikeln auf dem Waschgut bei der Entnahme abgesetzt hat und mit ihm in den Kjeldahl-Kolben gelangt ist.

b) Waschflotte:

Vor dem Waschprozeß:	—	—	—	—
nach 7' 40°:	8,00	8,08	7,98	8,02
nach 15' 40°:	9,20	9,23	9,19	9,21
nach 5' 80°:	9,01	9,09	9,07	9,06
nach 15' 80°:	8,85	8,81	8,83	8,83

Leerwert: 9,60 Faktor: 0,992

Die Untersuchung von Stichproben der Waschflotte zu den gleichen Entnahmezeitpunkten hat zu Ergebnissen geführt, die mit der Interpretation der Tab. 1 a) durchaus in Einklang zu bringen sind. Der Flottenleerwert wurde in diesem Falle nicht auf seinen N_2-Gehalt untersucht, da es sich um klares Leitungswasser handelte. Der Titrationswert von 8,02 bei der ersten Flottenentnahme spricht für einen relativ hohen Eiweißgehalt.

Bereits nach 7 min dauerndem Rühren im Wasserbad von + 40° C muß ein großer Teil des an dem Waschgut haftenden Bluteiweißes von diesem abgetrennt und in die Waschflüssigkeit gelangt sein. Der folgende Wert von 9,21 läßt sich nicht gut mit den übrigen Ergebnissen vereinbaren, da sonst der N_2-Gehalt der Flotte schon zu diesem Zeitpunkt erheblich abgenommen haben müßte. Die Flottenstichproben bei + 80° C haben wieder einen etwas geringeren Eiweißgehalt, da sich das Eiweiß zu großen Partikeln von Hitzekoagula zusammengeschlossen hat und sich als solches entweder auf dem Waschgut festsetzt und dort einbrennt oder als Sediment am Boden des Waschkolbens liegt und durch das Rührwerk nicht aufgewirbelt wird. Das gilt in größerem Maße für die Entnahme der Waschflüssigkeit nach einer Erhitzung von 15 min bei + 80° C als für die nach 5 min bei + 80° C.

Zur Sicherung des Ergebnisses wiederholten wir denselben Versuch unter den gleichen Bedingungen. Die Tab. 2 gibt einen zusammenfassenden Überblick über die Ergebnisse des zweiten Durchganges.

Tab. 2: Waschprozeß mit Leitungswasser ohne Zusatz
Untersuchung des Stickstoffgehaltes

a) Waschgut:

Vor dem Waschprozeß:	8,03	8,08	8,10	8,07
nach 7' 40°:	9,20	9,19	9,12	9,17
nach 15' 40°:	9,20	9,21	9,19	9,20
nach 5' 80°:	9,22	9,10	9,18	9,17
nach 15' 80°:	9,08	9,18	9,20	9,15

Leerwert: 9,55 Faktor: 0,975

b) Flotte:

Vor dem Waschprozeß :	—	—	—	—
nach 7' 40° :	9,11	9,12	9,10	9,11
nach 15' 40° :	8,97	8,80	8,72	8,83
nach 5' 80° :	9,00	9,02	9,06	9,03
nach 15' 80° :	9,00	9,08	9,12	9,07

Leerwert: 9,56 Faktor/ 0,974

Der zweite Untersuchungsgang hat uns im wesentlichen die Ergebnisse des ersten Waschprozesses bestätigt. Nur das Waschgut weist vor dem Einbringen einen erheblich niedrigeren Eiweißgehalt auf als die entsprechende Probe der Tab. 1. Diese Differenz ist damit zu erklären, daß das zuletzt untersuchte Stoffläppchen einschließlich der Blutrückstände nur ein Gewicht von 13,73 mg/cm^2 hatte. Der Titrationsendwert von 8,07 entspricht demnach einem nur sehr geringen N_2-Gehalt. Es verliert aber auch dieses Waschgut noch stark an Eiweiß, wie die Ergebnisse bis zu 9,20 im Laufe der Expositionszeit erkennen lassen.

Die Flottenentnahmen zeigen ein ganz entsprechendes Verhalten. Aus der Tab. 2a geht hervor, daß ein großer Teil des an dem Waschgut haftenden Bluteiweißes bereits nach einer Einwirkzeit von 10 min an die Waschflüssigkeit abgegeben wurde. Demzufolge läßt die Tab. 2b mit einem Titrationswert von 8,83 bei 15' + 40° C einen deutlichen Anstieg des Stickstoffspiegels erkennen. Durch das natürliche Absinken der Hitzekoagula weisen die Entnahmewerte bei + 80° C wieder einen leichten Abfall des N_2-Wertes auf.

Den Nachweis der in der Flotte vorhandenen Aminosäuren erbrachten wir mit der von WILLSTÄTTER und WALDSCHMIDT - LEITZ (92) angegebenen Methode der Titration der Aminosäuren in alkoholischer Lösung. Das Prinzip dieser sog. Aminosäuretitration beruht auf der Verringerung der Dielektrizitätskonstante im Reaktionsmilieu. Der Stickstoffanteil der Aminosäuren, nämlich ihre Aminogruppe, wird durch den Zusatz von Alkohol ausgeschaltet, sodaß sich dann die Aminosäuren als Karbonsäuren titrieren lassen. Zur Ausführung haben wir zu der neutralen Aminosäurelösung solange Alkohol zugegeben, bis ihr Gesamtgehalt an Alkohol 97 % betrug. Als Indikator verwandten wir 1 ml einer 1%igen alkoholischen Phenolphthaleinlösung auf 100 ml Flüssigkeit. Diese alkoholische Aminosäurelösung titrierten wir gegen eine n/10-alkoholische Kalilauge. - Wir standardisierten unsere Versuche, indem wir die zur Untersuchung gelangten Flottenproben vor der Verarbeitung im Elektro-pH-Meter auf einen konstanten pH-Wert von 7,0 einstellten und benutzten dazu o-Kresolsulfonphthalein. Die Ergebnisse der ersten Versuchsserie sind in der Tab. 3 zusammenfassend dargestellt.

Tab. 3: Waschversuch mit klarem Leitungswasser
Titration der Aminosäuren in der Flotte

Vor dem Waschprozeß :	—	—	—	—
nach 7' 40° :	0,04	0,05	0,04	0,047
nach 15' 40° :	0,04	0,04	0,03	0,037
nach 5' 80° :	0,05	0,05	0,06	0,053
nach 15' 80° :	0,06	0,04	0,05	0,050

Alle vier Stichproben der Waschflotte weisen einen Aminosäuretitrationswert auf, der nicht mehr als 0,01 vom gemeinsamen Mittelwert 0,0468 abweicht. Diese minimalen Differenzen zeigen, daß sich der Gehalt der Waschflüssigkeit an Aminosäuren während des Waschprozesses praktisch nicht verändert hat.

Da eine Probe der Waschflüssigkeit schon makroskopisch eine sehr große Menge kleinster Korpuskel erkennen ließ, hielten wir es für angebracht, fotografische Aufnahmen vom Sediment und der Suspension makroskopisch und mikroskopisch anzufertigen.

Abb. 4 Flottenentnahmen vom Waschprozeß mit klarem Leitungswasser

Auf der vorstehenden Abb. 4 erkennt man vier Reagenzgläser, in denen sich von links nach rechts die Flottenentnahmen auch 7´40°, 15´40°, 5´80° und 15´80° befinden. Der Inhalt der ersten beiden Röhrchen ist wasserklar und zeigt keine Niderschläge. Die Proben des Waschwassers bei +80° C dagegen lassen deutlich ein über linsengroßes Sediment erkennen, und zwar rechts etwas intensiver als links. Es handelt sich dabei um die durch Hitzekoagulation zusammengeballten Eiweißreste in der Lösung.

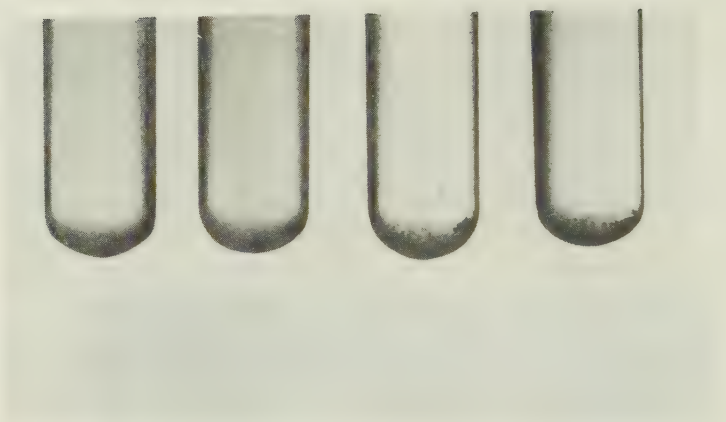

Abb. 5 Flottenproben der Abb. 4 nach Aufwirbelung des Sedimentes

Auf dem obigen Foto (Abb. 5) befinden sich die entsprechenden Flottenproben der Abb. 4 nach Aufwirbelung des Sedimentes. Das erste Reagenzglas links läßt jetzt doch eine leicht flockige Trübung erkennen, die auf schwarzem Hintergrund nicht darstellbar war. Wahrscheinlich handelt es sich um größere Fibrinfetzen, die direkt nach dem Abspülen von ihrer Stoffunterlage durch den weiteren Waschprozeß und das ständige Rühren noch nicht genügend zerkleinert worden waren. Jedenfalls ist die Lösung nach 15minütiger Erwärmung auf +40° C absolut klar und zeigt in keiner Weise das Bild einer Aufschwemmung. Im Gegensatz hierzu befinden sich in den beiden rechten Reagenzgläsern, die den Flottenentnahmen nach 5 bzw. 15 min bei +80°C entsprechen, massenhaft Hitzekoagula aus Bluteiweißen, die mit größter Wahrscheinlichkeit für den Aufenthalt von lebendem Virus nach dem thermischen Desinfektionsversuch verantwortlich gemacht werden müssen.

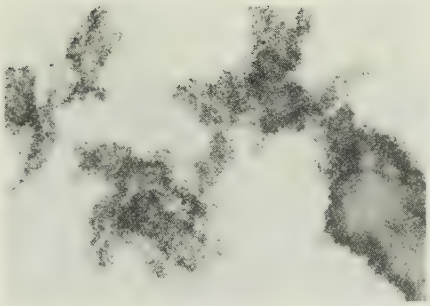

Abb. 6 Eiweißkoagula Vergr. 150 : 1

Abb. 6 zeigt eine mikroskopische Aufnahme eines aufgeschwemmten Partikels aus dem 3. Reagenzglas v.l. der Abb. 5 im durchfallenden Licht. In diesem flächenhaften Präparat erkennt man viel deutlicher als auf der Abb. 3 die aufgelockerte Struktur des Koagulums. Die unzähligen, mit Luft gefüllten Hohlräume sind unseres Erachtens der Grund für die extrem hohe Thermoresistenz der eingebetteten Viren. Der Grund für 99 Versager in den Tab. 10 bis 20 bei den Überimpfungen der Flottenentnahmen von 5 und 15 min bei + 80° C ist wahrscheinlich in diesen Luftpolstern zu suchen.

In der zweiten Untersuchungsserie unterzogen wir die verunreinigten Stoffläppchen einem Waschprozeß mit Leitungswasser unter Zusatz von 8 g Stella-Seifenpulver pro 1000 ml Leitungswasser. Die sonstige Methodik blieb dabei unverändert.

Die erste Darstellung (Abb. 7) stammt von einem Stoffläppchen, nachdem es das oben geschilderte Waschverfahren durchlaufen hatte. Im Vergleich zur parallelen Abb. 2 zeigt es zwar an den prominenten Punkten einige saubere Stellen, ist aber doch noch intensiv mit Blut-

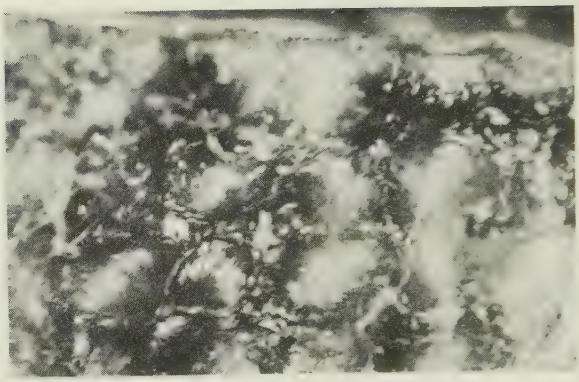

Abb. 7 Waschgut nach dem Waschprozeß

resten und Stücken eines Fibrinnetzes behaftet. Besonders der linke Anteil der Abb. 7 läßt deutlich die völlig unzureichende Reinigung des Waschgutes von Blut erkennen. Der Abbildungsmaßstab beträgt 50 : 1.

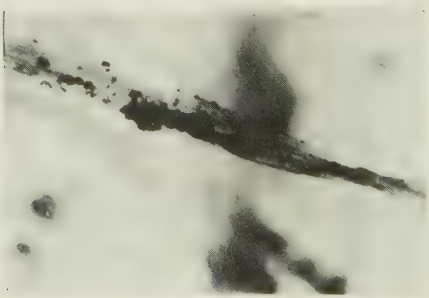

Abb. 8 Stoffaser nach dem Waschprozeß
Vergr. 350 : 1

Bei der Abb. 8 handelt es sich wieder um ein Zupfpräparat des Stoffstreifens aus der Abb. 7. Man erkennt die in gleicher Richtung wie auf der Abb. 3 verlaufende Faser und die an ihr haftenden Verunreinigungen. Dabei hat man den Eindruck, daß die Blutinkrustierungen sich nicht nur auf dem Faden befinden, sondern sogar direkt in ihn hineingedrungen sind. Da es uns an anderer Stelle bereits gelungen war, in eine Stoffaser eingedrungene Staphylokokken darzustellen, halten wir die Möglichkeit, daß Bluteiweiße in die Faser eingedrungen sind und dann erst koaguliert wurden, für durchaus diskutabel. - Die Abb. 8 wurde im durchfallenden Licht aufgenommen; ihr liegt ein Abbildungsmaßstab von 350 : 1 zugrunde.

Beim Waschprozeß mit Zusatz von Sunlicht-Stella-Seifenpulver nahmen wir ebenfalls eine Stickstoffkontrolle von Waschgut und Waschflüssigkeit mit der Mikromethode von KJELDAHL vor. Dabei erhielten wir für die mit Blut stark angereicherte Stoffprobe folgende Werte.

Tab. 4: Waschprozeß mit Zusatz von Stella-Seifenpulver
Untersuchung des Stickstoffgehaltes

a) Waschgut:

Vor dem Waschprozeß:	8,41	8,40	8,45	8,42
nach 7' 40°:	9,22	9,26	9,29	9,26
nach 15' 40°:	9,38	9,44	9,40	9,41
nach 5' 80°:	9,71	9,67	9,75	9,71
nach 15' 80°:	9,52	9,67	9,60	9,60

Leerwert: 9,81 Faktor: 0,959

b) Waschflüssigkeit:

Vor dem Waschprozeß:	9,99	10,00	9,87	9,99
nach 7' 40°:	9,82	9,80	9,78	9,80
nach 15' 40°:	9,65	9,76	9,89	9,77
nach 5' 80°:	9,47	9,54	9,57	9,53
nach 15' 80°:	9,92	9,88	9,90	9,90

Leerwert: 9,82 Faktor: 0,992

Zur Interpretation der Tabb. 4a und 4b läßt sich sagen, daß sich bei grober Betrachtung die entsprechenden Ergebnisse umgekehrt proportional zueinander verhalten. Der Titrationsmittelwert von 8,42 deutet auf ein Waschgut von mittlerer Belastungsintensität mit organischen Ballaststoffen hin. Bei der Leerwertskontrolle der Flotte erhalten wir mit Werten von 10,00 und 9,99 sozusagen keinen Stickstoffausschlag. Somit hat also die Zufuhr von Sunlicht-Stella-Seifenpulver nicht zu einer Anreicherung des N_2-Gehaltes in der Waschflüssigkeit geführt. Während im weiteren Verlauf des Waschprozesses nun die Werte der Stoffprobe bis zu einer Temperatur von + 80° C kontinuierlich zunehmen, was einem Verlust der eiweißhaltigen Verschmutzungen gleichkommt, fällt der Titrationsmittelwert in gleicher Weise bei der Untersuchung der Flottenproben. Das extrem hohe Resultat nach 15´80° in der Tab. 4b mag dadurch bedingt sein, daß die Entnahme nicht aus der sonst üblichen festgelegten Tiefe des Waschkolbens erfolgte, so daß der größte Teil der reichlich stickstoffhaltigen Koagula nicht erfaßt werden konnte.

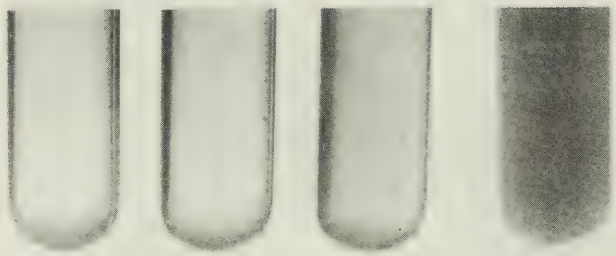

Abb. 9 Flottenproben beim Waschprozeß mit Leitungswasser unter Zusatz von Stella-Seifenpulver

In dem Bestreben, auch bei diesem Waschprozeß in den jeweiligen Flottenproben Eiweißpartikel fotografisch nachzuweisen, stießen wir auf erhebliche Schwierigkeiten, da die anfangs klare Waschflüssigkeit durch den Zusatz von Sunlicht-Stella-Seifenpulver stark getrübt wurde. Auf Grund dieser Tatsache lassen sich in dem letzten Reagenzglas rechts auf der Abb. 9 infolge der völligen Undurchsichtigkeit keine Hitzekoagula zur Darstellung bringen. In dem dritten Reagenzglas v.l. kann man jedoch eine leichte Flockung und einige Blutgerinnsel nachweisen, während die Flottenentnahmen bei 7 und 15 min bei $+40^{\circ}$C relativ klar erscheinen.

Der dritte Untersuchungsgang wurde mit Sunex, Fettlöser und Nupur-Seifennadeln als Zusätze zum Leitungswasser durchgeführt.

Auf der Abb. 10 ist ein Ausschnitt vom Waschgut nach dem Waschprozeß dargestellt. Bei oberflächlicher Betrachtung macht das Waschgut einen ausgesprochen sauberen Eindruck; beim näheren Hinsehen stellt man jedoch ein sehr feines Fibringerüst fest, das allen Fasern aufgelagert

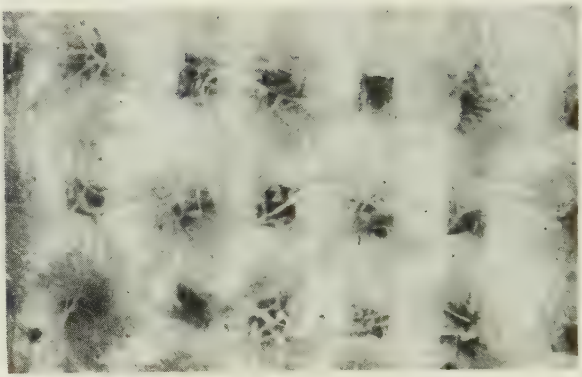

Abb. 10 Waschgut nach dem Waschprozeß mit Sunex, Fettlöser und Nurpur-Seifennadeln

ist. Im 3. Quadranten der Abb. 10 sind sogar einige Hitzekoagula von Bluteiweißen zu erkennen. Die Perforationen des Textilgewebes zwischen den einzelnen Knoten sind meist frei von irgendwelchen Einschlüssen.

Auch bei dieser Versuchsserie stellten wir vergleichende Stickstoffuntersuchungen von Flotte und Stoffläppchen an. Die Tabb. 5a und 5b geben einen zusammenfassenden Überblick über die erzielten Resultate.

Da der Trockenwert des Leinenläppchens mit 9,94 für alle Stickstoffbestimmungen die gleiche Gültigkeit hat, müssen wir in dem Waschprozeß mit Leitungswasser unter Zugabe von Sunex, Fettlöser und Nurpur-Seifennadeln den bisher besten Aufschlüsselungseffekt sehen. Von keinem anderen der beiden bisher geprüften Verfahren wurde ein Titrationsmittelwert von 9,75 erreicht. Mit 0,19 besteht jedoch immer noch eine deutliche Differenz zur eiweißfreien Läppchenkontrolle. Die Abtragung der organischen Ballaststoffe erfolgt nach Tab. 5a langsam aber konstant.

Tab. 5: Waschprozeß mit Zusatz von Sunex, Fettlöser und Nurpur
Untersuchung auf N_2-Verschiebungen

a) Stoffläppchen:

Vor dem Waschprozeß :	8,70	8,76	8,79	8,75
nach 7' 40° :	8,84	9,94	8,85	8,88
nach 15' 40° :	9,28	9,32	9,89	9,33
nach 5' 80° :	9,55	9,59	9,51	9,55
nach 15' 80° :	9,71	9,86	9,69	9,75

Leerwert: 9,81 Faktor: 0,992

b) Flottenproben:

Vor dem Waschprozeß :	9,95	9,99	9,91	9,95
nach 7' 40° :	9,91	9,89	9,93	9,91
nach 15' 40° :	9,73	9,75	9,82	9,77
nach 5' 80° :	9,64	9,38	9,89	9,63
nach 15' 80° :	8,93	8,89	8,87	8,90

Leerwert: 9,98 Faktor: 1,016

Die Flottenentnahme von 15´80° C aus der Tab. 5b läßt einen deutlichen Stickstoffzuwachs erkennen, der dem Eiweißverlust der entsprechenden Waschgutprobe annähernd gleichkommt.

Ob die Zunahme des N_2-Gehaltes bei der letzten Flottenuntersuchung durch eine direkte und mechanisch bedingte Abgabe des Bluteiweißes von dem Waschgut oder durch eine Aufspaltung der eiweißhaltigen Ballaststoffe bis zu den Aminosäuren zustande gekommen ist, soll an Hand der folgenden Tabelle ermittelt werden.

Tab. 6: Nachweis der in den Flottenproben von Tab. 5b vorhandenen Aminosäuren durch alkoholische Titration

Vor dem Waschprozeß :	0,05	0,04	0,05	0,047
nach 7' 40° :	0,06	0,04	0,05	0,050
nach 15' 40° :	0,06	0,06	0,05	0,057
nach 5' 80° :	0,07	0,05	0,07	0,063
nach 15' 80° :	0,08	0,08	0,09	0,083

Wie aus Tab. 6 eindeutig zu ersehen ist, handelt es sich bei dem hohen Stickstoffwert der Flotte nach 15´80° C nicht nur um Eiweiß-, sondern um Aminostickstoff. Da wir feststellen konnten, daß der normale Durchschnittstitrationswert einer unserer Waschflüssigkeit entsprechenden Blutlösung 0,027 beträgt, muß es unter dem Einfluß der im dritten Waschprozeß zugegebenen Substanzen zu einer partiellen Aufschlüsselung der Proteine bis zu den Aminosäurebausteinen gekommen sein, allerdings erst nach einer Expositionszeit von 15 min bei + 80° C.

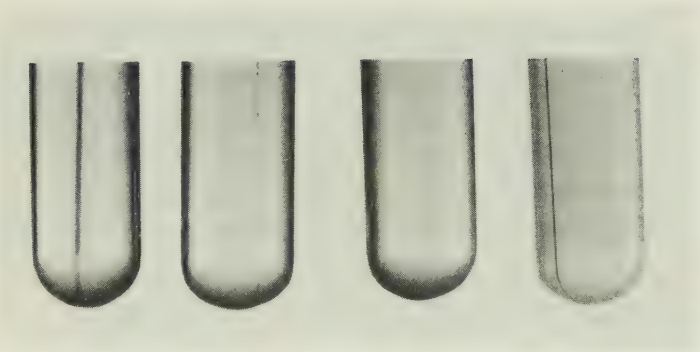

Abb. 11 Vergleich der Flottenentnahmen in den vier Stadien des 3. Waschverfahrens

Abb. 11 zeigt einen Vergleich der vier Stadien (7´40°, 15´40°, 5´80° und 15´80° C) der Flottenentnahmen im dritten Waschprozeß. Das dritte Röhrchen v.l. läßt eine leichte, nur angedeutete körnige Struktur erkennen, allerdings nur sehr unscharf, weil durch die Zugaben von drei Waschmitteln der Inhalt der Reagenzgläser fast undurchsichtig geworden ist. Röhrchen Nr. 1 und 2 v.l. haben ein absolut homogenes Bild, da ja auch bei der niedrigen Temperatur von + 40° C noch kein Auftreten von Hitzekoagula zu erwarten ist. Bei der letzten Flottenentnahme rechts liegt die Vermutung nahe, daß das Aussehen der Waschflüssigkeit eher dem Inhalt der beiden linken Röhrchen als dem des ersten von rechts auf der Abb. 9 gleicht. Daß es sich hierbei jedoch nicht um eine klare Flüssigkeit handeln kann, sondern daß vielmehr durch den hohen Waschmittelgehalt die mit Sicherheit vorhandene körnige Aufwirbelung unsichtbar gemacht wird, beweisen die Tierversuche (Tabb. 13 und 17).

Die letzte Untersuchungsserie dieser Art behandelt einen Waschprozeß unter Zugabe von Enzym 1500, Olitextol und Telaplex. Da die Summe dieser Substanzen die Waschflüssigkeit intensiv weißgrau färbt und die Flotte sehr schaumig macht, muß auf die Wiedergabe von entsprechenden Abbildungen verzichtet werden. Sämtliche Reagenzgläser sind von gleicher, homogener Färbung und lassen keine Strukturen mehr erkennen.

Bei diesem letzten Untersuchungsgang im Rahmen der Stickstoffmessungen und Aminosäuretitrationen testeten wir das von HARMSEN und BIEN (6, 7, 36) entwickelte biothermische Desinfektions-Waschverfahren mit Enzym 1500, Olitextol und Telaplex. Auf Grund zahlreicher Literaturangaben soll diese Waschtechnik heute als die Methode der Wahl gelten, da nur ihr eiweißspaltende Fähigkeiten zugesprochen werden. Da ihre tatsächliche Desinfektionswirkung im Zusammenhang mit den Tierversuchen ausführlich diskutiert wird, soll an dieser Stelle nur auf die theoretischen Grundlagen eingegangen werden.

Tab. 7: Waschprozeß mit Zusatz von Enzym 1500, Olitexol und Telaplex. Darstellung von Stickstoffverschiebungen

a) Waschgut:

Vor dem Waschprozeß:	5,20	4,81	4,32	4,78
nach 7' 40°:	8,17	8,53	8,45	8,38
nach 15' 40°:	9,56	9,67	9,78	9,67
nach 5' 80°:	9,96	9,91	9,92	9,93
nach 15' 80°:	9,95	9,93	9,89	9,92

Leerwert: 10,01 Faktor: 1,002

Wie der erste Titrationswert von 4,78 vermuten läßt, hat es sich bei der Veraschung um ein intensiv mit Blut behaftetes Stoffläppchen von 27,5 mg Gesamtgewicht pro cm^2 gehandelt. Dieser starke Eiweißgehalt fiel aber bereits nach einer Einwirkzeit von 7 min bei einer Temperatur von $+40^{\circ}C$ von 4,78 auf 8,38. Im weiteren Verlauf des Waschprozesses erhöhte sich der Titrationswert auf 9,93, d.h. daß sich nach dieser Zeit praktisch keine fremden stickstoffhaltigen Substanzen mehr auf dem Waschgut be-

funden haben, da dieses einen eigenen, nicht durch Proteine hervorgerufenen N_2-Gehalt von 9,94 hatte. Es muß also festgestellt werden, daß die durch artifizielle Verunreinigung mit dem Waschgut fest verbundenen eiweißhaltigen Ballaststoffe durch das Enzymverfahren völlig von ihrer Unterlage abgelöst wurden. Inwiefern dieser Effekt durch Eiweißspaltung erreicht wurde, kann erst durch die alkoholische Titration der Flottenaminosäuren ermittelt werden.

b) Waschflotte:

Vor dem Waschprozeß :	9,84	9,89	9,86	9,86
nach 7' 40° :	6,14	5,81	6,99	6,31
nach 15' 40° :	6,03	5,57	6,02	5,88
nach 5' 80° :	6,04	5,55	6,00	5,86
nach 15' 80° :	5,72	5,81	5,96	5,83

Leerwert: 10,05 Faktor: 1,008

Die Tab. 7b bestätigt die sehr befriedigenden Resultate aus den Waschgutuntersuchungen. Vor dem Waschprozeß weist die Flotte einen leichten Stickstoffgehalt auf, der auf die Zugabe von Enzym 1500 zurückzuführen ist. Bereits nach 7 min steigt die N_2-Menge pro ml Flotte erheblich an, da sie einen Großteil des vorher auf dem Waschgut befindlichen Bluteiweißes aufgenommen hat. Nach einer Versuchsdauer von 15 min bei + 40° C hat die Stickstoffverlagerung ihr Ende gefunden. Der N_2-Gehalt der Flotte bleibt von diesem Zeitpunkt an konstant hoch, vergrößert sich aber nicht mehr. Wir können also feststellen, daß sich die eiweißablösen-

de Wirkung dieses Waschverfahrens auf die Zeit der Vorwäsche beschränkt. Darüber hinaus können keine weiteren Stickstoffverschiebungen mehr beobachtet werden.

Es bleibt nur noch die Frage offen, ob die Fähigkeit des Burnus-Verfahrens, das Waschgut von seinen organischen Ballaststoffen zu befreien, darauf zurückzuführen ist, daß die Eiweiße unter dem Einfluß des Enzyms abgebaut werden und somit die pathogenen Keime ohne Schutzhülle in die Flotte übergeführt werden, oder ob es sich um einen rein mechanischen Säuberungseffekt handelt. Im zweiten Falle dürfte es dann nicht zu einer Vermehrung der Aminosäuren in der Waschflüssigkeit kommen. Ob das der Fall ist, soll eine Übersicht der Ergebnisse aus dem folgenden Versuch klären.

Tab. 8: Titration der Aminosäuren aus den Flottenproben der Tab. 7b

Vor dem Waschprozeß :	0,07	0,04	0,05	0,053
nach 7' 40° :	0,08	0,10	0,08	0,087
nach 15' 40° :	0,15	0,09	0,13	0,123
nach 5' 80° :	0,14	0,10	0,15	0,130
nach 15' 80° :	0,14	0,12	0,90	0,117

In der Tab. 8 finden wir eine Übersicht der Werte aus der alkoholischen Titration der Flottenaminosäuren im Rahmen des thermischen Desinfektions-Waschverfahrens mit Enzym 1500, Olitexol und Telaplex. Vor dem Waschen hatte die Flüssigkeit einen gegenüber den übrigen Anfangswerten leicht gesteigerten Gehalt an Aminosäuren, der mit den im Enzym 1500 frei befindlichen Aminosäuren zu erklären ist. Mit der Dauer der Einwirkzeit nehmen die Titrationsmittelwerte bis zum Entnahmezeitpunkt 15'40° erheblich zu und halten sich auf diesem Niveau. Es müssen also

durch das Enzymverfahren die Bluteiweiße zumindest weitgehend gespalten werden; eine rein mechanische Ablösung der Ballaststoffe von ihrer Unterlage ist nach den Resultaten der Tab. 8 völlig ausgeschlossen.

Tierversuche:

Von der großen Menge der tier- und menschenpathogenen Virusarten, die für experimentelle Untersuchungen Verwendung finden, wurde von uns je ein Vertreter als Repräsentant der jeweiligen Virusgruppe für unsere Versuche gewählt, um damit das Größenspektrum der Viren weitgehend zu erfassen. Zur Untersuchung gelangten das Herpes- und das Influenza-A-Virus, der Stamm Theiler aus der Gruppe der Mäuseenzephalomyelitis-Viren und von den kleinen Arten der Stamm EMC von den Enzephalomyocarditis-Viren.

Die Infektion des keimtragenden Materials mit dem Influenza-Virus soll an anderer Stelle besprochen werden (s. S. 57). Bei den übrigen drei Virusarten wurden jeweils vier präparierte Mäusegehirne verwandt. Diese waren bis zum Versuchsbeginn in einer Glycerin-NaCl-Lösung in der Tiefkühltruhe bei $-20^{\circ}C$ konserviert und anschließend bei $-2^{\circ}C$ im Kühlschrank aufgetaut worden (59). Vier virushaltige Gehirne gaben wir in einen sterilen Schüttelbecher und vermengten sie mit 10,8 cm^3 phys. NaCl, wobei 2,7 ml phys. NaCl pro Gehirn einem Verdünnungsverhältnis von 1 : 10 entsprachen.

Als Keimträger verwandten wir Leinenläppchen von der Größe 4 mal 9 cm und einem Trockengewicht von 555 mg. Da man von Versuchen über die Wäschedesinfektion bei bakteriellen Verschmutzungen weiß, daß viele andere keimtragenden Materialien den Desinfektionseffekt beeinflussen können, haben wir Leinenstreifen ohne optische Aufheller als Modell für Körper- und Bettwäsche gewählt (2).

Für die Infektion der Keimunterlagen entnahmen wir einem Schüttelkolben pro Läppchen 2,5 ml virushaltiges Material und tropften es gleichmäßig auf. Nach einer kurzen Antrocknungszeit von ca. 10 min wurde auf jedes Leinenläppchen noch 1 ml direkt gewonnenes Mäuseblut gegeben. Nach einer derartigen Infektion der Keimträger und ihrer Behaftung mit Ballaststoffen wurden die Läppchen in sterilen Petrischalen 2 std an der Luft getrocknet.

Nach dieser Einwirkzeit gaben wir jedes Läppchen in den entsprechenden Waschprozeß, beginnend mit einer Waschflottentemperatur von +20°C. Die erste Entnahme von Flotte und Wäsche erfolgte bereits nach 1 min, während der das Waschgut durch ein Rührwerk in dauernder Bewegung gehalten worden war. Von dem 36 cm^2 großen Keimträgerläppchen trennten wir 9 cm^2 ab und zerrieben es 15 min lang mit Hilfe von 2,26 g Quarzsand im Mörser und nach Zugabe von 10 ml phys. NaCl noch weitere 3 min. Hiernach gaben wir den Mörserinhalt ohne Quarzsand, bestehend aus der Wäscheprobe und phys. NaCl, in ein steriles 10-ml-Fläschchen und stellten es für 10 min in die Schüttelmaschine.

Mit dem so gewonnenen infektiösen Substrat und der direkt entnommenen Flottenprobe erfolgte die Verimpfung auf die Tiere. Die Dosis betrug dabei 0,03 ml intrazerebral pro Maus für das Herpes- und Theiler-Virus und 0,2 ml subkutan für den Stamm EMC.

Wenn auch nach BINGEL (8) eine Infektionsdosis von unter 0,05 ml intrazerebral zu einer Beeinträchtigung der experimentellen Sicherheit bei diesen kleinen Versuchstieren führen soll, so unterschritten wir dennoch diese Menge, da wir einerseits schon früher festgestellt hatten, daß bei genügend großen Kollektiven diese kleinen Gaben nicht zu einer Verfälschung der Resultate führten, und andererseits die Zahl der durch das Impftrauma gestorbenen Tiere bei einer Injektionsmenge von 0,05 ml und darüber intrazerebral erheblich anstieg.

In der gleichen Weise verfuhren wir nach einer Einwirkungszeit von 15 min bei +40°C, 5 min bei +80°C und 15 min bei +80°C. Durch die zweifache Zugabe von je 10 ml phys. Kochsalzlösung kam eine Gesamtverdünnung von 1 : 100 zustande. Da nach JOCHHEIM und KOCH (46) die "intrazerebrale Injektion der zuverlässigste Infektionsmodus" ist,

wählten wir diesen und gaben in den späteren Versuchen, um eine größere Menge an Inokulationsmaterial applizieren zu können, zusätzlich noch jedem Versuchstier 0,2 ml der virushaltigen Impfflüssigkeit intramuskulär.

Bezüglich der Versuchstiere legten wir großen Wert auf die Verwendung eines einheitlichen Materials. Dabei kam es uns im wesentlichen darauf an, daß die Mäuse in Gewicht (12 - 14 g), Alter und Herkunft übereinstimmten. Weil bereits von GÖNNERT und BOCK (32) darauf hingewiesen wurde, daß bei ihren sämtlichen Versuchen sich hinsichtlich des Krankheitsverlaufes keine geschlechtsbedingten Unterschiede zeigten, achteten wir lediglich darauf, daß nur pro Einzelkollektiv Tiere des gleichen Geschlechts verwandt wurden.

Nach dem Impfen beobachteten wir alle Albinomäuse über eine Zeit von 3 Wochen. Die Auswertung der Versuche erfolgte danach, ob die geimpften Tiere innerhalb dieser Beobachtungszeit unter den für die betreffende Virusart spezifischen Symptomen starben. Das Auftreten von typischen Lähmungserscheinungen an den Extremitäten allein haben wir tabellarisch nicht als Zeichen einer angegangenen Infektion festgehalten, da fast alle Tiere dieser Art sowieso kurz darauf eingingen. Unter Ausschaltung der infolge des Injektionstraumas zugrunde gegangenen Tiere ist also die Zahl der später gestorbenen Mäuse ein direktes Maß für die Zahl der die Hitzeeinwirkung überlebenden Infektionseinheiten.

Für eine Infektiositätskontrolle des benutzten Leinens als Keimträger und des verwandten Ballastmaterials wurde die gleiche Versuchsserie ohne Virusinfektion angesetzt. Dabei zeigte sich, daß sämtliche Tiere die Beobachtungszeit von drei Wochen überlebten.

Vor den speziellen Untersuchungen über den Desinfektionseffekt von Waschprozessen mit den handelsüblichen Waschmitteln soll durch eine Verdünnungskontrolle (I D 50) die Höhe des Infektionstiters bestimmt werden. Die Infektionsdosis betrug bei diesem Versuch 0,03 ml intrazerebral und zusätzlich 0,2 ml intramuskulär pro Maus. Als Infektionsmaterial wählten

Tab. 9: Infektiositätskontrolle einer Verdünnungsreihe (I D 50) mit dem Herpes-Virus

Konzentration	T S: 0-80	I 163	187	212	234	239	356	500
$X \cdot 10^{-1}$	3/3	2/3	2/3	0/3	—	—	—	—
$X \cdot 10^{-2}$	3/3	2/3	2/3	2/3	2/3	1/3	0/3	—
$X \cdot 10^{-3}$	3/3	3/3	2/3	1/3	0/3	—	—	—
$X \cdot 10^{-4}$	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
$X \cdot 10^{-5}$	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
$X \cdot 10^{-6}$	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3	3/3
$X \cdot 10^{-7}$	3/3	3/3	3/3	3/3	2/3	2/3	2/3	2/3

Zeichenerklärung:

Die Brüche geben das Verhältnis der überlebenden Mäuse (Zähler) zu den geimpften Tieren (Nenner) an (49)

T = Tod infolge des Injektionstraumas
I = Tod infolge einer angegangenen Virusinfektion
S = Stunden nach dem Impfen

wir die unter 1b beschriebene, in einem Schüttelkolben befindliche Virus - Mäusegehirn - Suspension und bezeichneten ihre Konzentration als $X \cdot 10^{0}$. Diese Konzentration verdünnten wir mit phys. NaCl absteigend bis $X \cdot 10^{-7}$ und impften damit jedesmal ein Kollektiv von 3 Tieren. Die Versuchsmäuse wurden in der üblichen Weise über drei Wochen beobachtet und ihr Tod tabellarisch registriert. Die Ergebnisse sind aus der Tab. 9 ersichtlich.

Die Tab. 9 läßt erkennen, daß eine Verdünnung von $X \cdot 10^{-3}$, die einem Gesamtkonzentrationsverhältnis von 1 : 10 000 (s. 1b) entspricht, noch genügend Infektionseinheiten enthält, sodaß keines der geimpften Versuchstiere länger als zwei Wochen am Leben blieb. Das positive Ergebnis bei der Konzentration von $X \cdot 10^{-7}$ und einer Einwirkzeit von 234 std stellt einen Einzelbefund dar, der unseres Erachtens nicht ausreicht, die Infektionstüchtigkeit dieser hochverdünnten Virussuspension zu beweisen, zumal vor dem Tod des Tieres keine für das Herpes-Virus typischen Erkrankungszeichen nachgewiesen werden konnten.

Die erste Untersuchungsserie im Rahmen der Wäschedesinfektionsversuche wurde mit dem als sehr resistent bekannten Herpes-Virus (30) und sterilem Leitungswasser als Waschflüssigkeit angesetzt. Die Ergebnisse veranschaulicht die Tab. 10 (s.S.38).

Aus der Tab. 10 ist ersichtlich, daß mit Ausnahme eines Versuchstieres aus der Wäschekontrolle bei 1´ 20° kein Tier die Infektion lebend überstanden hat.

Da wir keine Abweichungen von einer Normal-Häufigkeitsverteilung der Absterbe- bzw. Überlebenszeiten (27) innerhalb des Kollektives feststellen konnten, sind wir der Ansicht, daß die Albinomäuse außer der von uns kontrollierten infektiösen Impfflüssigkeit keinen weiteren schädigenden Noxen ausgesetzt waren. Diese Aussage hat natürlich nur für die an den Folgen einer Infektion gestorbenen Tiere Gültigkeit; besonders zu Beginn von Serienversuchen, die eine intrazerebrale Injektion erforderlich machen, kommt es immer wieder vor, daß eine geringe Zahl der Versuchsmäuse infolge unspezifischer zerebraler Reaktionen (76) eingeht. Daher haben wir diese Fälle in unseren Tabellen besonders markiert und bei der Interpretation der Resultate exkludiert.

Die stark umrandeten Ergebnisse aus den Wäsche-Kontrollen bei 5 min + 80° C und 15 min + 80° C zeigen eindeutig, daß dieser einfache Waschprozeß mit sterilem Leitungswasser ohne Waschmittelzusatz nicht in der Lage ist, das mit Herpes-Virus infizierte Waschgut hinreichend zu desinfizieren. Sämtliche Tiere, die mit den bei 5 min +80°C und 15 min + 80° C entnommenen Proben der Waschflüssigkeit geimpft worden waren, haben die dreiwöchige Beobachtungszeit überlebt. Das bedeutet jedoch nach ALBRECHT, LAMMERS und v. WASIELEWSKI

Tab. 10: Waschprozeß ohne Waschmittelzusatz mit Herpes-Virus infiziertem Waschgut (1. Verschmutzungsgrad)

	T / I → S →	0-80	100	130	135	153	155	159	162	177	180	183	190	202	209	225	236	258	273	297	500
1'20° Flotte	♂	8/10	8/8	8/8	8/8	8/8	7/8	7/8	7/8	5/8	5/8	4/8	4/8	4/8	3/8	2/8	1/8	1/8	0/8	–	–
1'20° Wäsche	♂	10/11	10/10	10/10	10/10	8/10	8/10	7/10	6/10	4/10	4/10	4/10	4/10	2/10	2/10	2/10	2/10	2/10	2/10	1/10	1/10
15'40° Flotte	♂	7/10	7/7	6/7	5/7	4/7	4/7	4/7	4/7	3/7	3/7	3/7	2/7	1/7	1/7	0/7	–	–	–	–	–
15'40° Wäsche	♀	10/11	9/10	8/10	7/10	6/10	5/10	4/10	4/10	2/10	2/10	2/10	2/10	2/10	2/10	1/10	0/10	–	–	–	–
5'80° Flotte	♀	10/11	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
5'80° Wäsche	♀	8/10	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	8/8	7/8	7/8	7/8	7/8	7/8	7/8	7/8	6/8	6/8	6/8	6/8
15'80° Flotte	♂	9/10	9/9	9/9	9/9	9/9	9/9	9/9	9/9	9/9	9/9	9/9	9/9	9/9	9/9	9/9	9/9	9/9	9/9	9/9	9/9
15'80° Wäsche	♂	10/11	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	8/10	8/10	8/10	8/10	8/10

(2) keinesfalls, daß sämtliche, während des Waschprozesses vom Leinenläppchen abgeschwemmten Viren inaktiviert wurden. Die genannten Autoren sind daher der Ansicht, daß die Größe und Zahl der Stichproben, wie auch Interferenzerscheinungen bei der Infektion der Versuchstiere für die Beurteilung des Desinfektionseffektes von ganz entscheidender Bedeutung sind. Daher kann erst dann die Wirkung eines Desinfektions-Waschverfahrens als "befriedigend" bezeichnet werden, wenn mit Ausnahme der infolge des Überimpfungstraumas eingegangenen keines der geimpften Versuchstiere innerhalb der dreiwöchigen Beobachtungszeit starb.

Zur Sicherung der bisher gefundenen Ergebnisse erfuhr der zweite Waschversuch hinsichtlich der Injektionsdosis und der Größe des Tiermaterials eine Modifikation. In diesem Falle kam ein Gesamtkollektiv von 130 Tieren zur Verwendung, wobei die Flottenentnahmen bei 5 min + 80° C und 15 min + 80° C jetzt auf 15 statt wie bisher auf 10 Versuchstiere überimpft wurden. - Bei einer hohen Virulenz des Virus genügt nach GÖNNERT und BOCK (32) für biologische Objekte eine Tierzahl von 10 weißen Mäusen pro Kollektiv, d.h. für eine Überimpfung mit gleichem Infektionsmaterial, um eine ausreichende Genauigkeit der Resultate zu erhalten. Da bei einer geringeren Infektiosität, wie wir sie bei einer Expositionszeit von 5 bis 15 min bei + 80° C durchaus erwarten können, und einer dementsprechend längeren Überlebenszeit der Versuchstiere naturgemäß aber größere Streuungen auftreten, weil dadurch die individuellen Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchstieren wesentlich deutlicher werden, hielten wir für die Proben bei höheren Temperaturen, besonders für das Waschgut, eine Erhöhung der Tierzahl pro Dosis von 10 auf 15 bzw. 30 weiße Mäuse für erforderlich. Weiterhin wurde der Beschmutzungsgrad mit Ballaststoffen dahingehend geändert, daß wir statt der Bedingung 1 jetzt die Bedingung 3 wählten, d.h. daß das Keimmaterial nicht mehr allein mit Blut, sondern zusätzlich noch mit Eiter, Kot, Albumin und Lecithin belastet wurde. Alle diese eiweißhaltigen Ballaststoffe wurden vor der Verunreinigung mit dem von LAMMERS und GEWALT (54, 57) angegebenen neuen Verfahren der Keimabtötung mit gespanntem Äthylen -

oxyd sterilisiert. Die neue Infektionsdosis setzten wir fest mit 0,2 ml intramuskulär und 0,03 ml intrazerebral pro Albinomaus. Die Tab. 11 (s.S.41) gibt einen Überblick über die bei vorstehend beschriebener Versuchsanordnung erzielten Resultate.

An Hand der Tab. 11 läßt sich eindeutig beweisen, daß eine Temperatur von + 80° C bei einer Einwirkungszeit von 5 bis 15 min nicht in der Lage ist, von Ballaststoffen umhüllte Viren zu inaktivieren. Bei der Überimpfung der Wäscheprobe 15´80° starben in einem Zeitraum von 2 Wochen 8 Versuchstiere aus einem Kollektiv von 30 weißen Mäusen unter den typischen Krankheitssymptomen; das entspricht einem Prozentsatz von 26,7 %. Die Überimpfung der hochinfektiösen Flottenentnahmen bei den niedrigen Temperaturen hatten einen wesentlich rascheren Tod aller Mäuse zur Folge, als es beim ersten Versuch der Fall war. Daß auch die Überimpfung der Flotte bei den Entnahmen 5´80° C und 15´80° C noch in 6 bzw. 13 Fällen zum Tod der Versuchstiere führte, spricht dafür, daß durch das ständige Rühren die Ballastsubstanzen in größeren Partikeln vom Waschgut abgespült wurden und, in sich pathogenes Material enthaltend, auf die weißen Mäuse überimpft wurden. An den Folgen des Impftraumas ging kein Tier zugrunde.

Ob auch bei Zusatz eines gewöhnlichen Seifenpulvers eine derartige Beständigkeit der eiweißhaltigen Ballaststoffe ohne Abbau beobachtet wird, zeigt die Tab. 12 (s.S.42). Im wesentlichen hat dieser Waschprozeß mit sterilem Leitungswasser unter Zugabe von Sunlicht-Stella-Seifenpulver die gleiche Versuchsanordnung, wie es bisher der Fall war. Lediglich wurden bei der Vorwäsche 300 ml einer Lösung aus 8 g Stella-Seifenpulver pro 1000 ml Leitungswasser und bei der Klarwäsche 300 ml einer Seifenlauge von 5 g Stella-Seifenpulver pro 1000 ml benutzt. Unter der Klarwäsche versteht man einen Wechsel der Waschflüssigkeit nach einer Einwirkzeit von 5 min bei + 80° C. Die neue Flotte wird dann wieder auf + 80° C angeheizt und das Waschgut darin weitere 10 min in Bewegung gehalten. Der ganze übrige Prozeß wie Rühren, Anheizen, Verarbeitung von Waschgut- und Flottenentnahmen zur Kontrolle auf nicht inaktiviertes

Tab. 11: Waschprozeß ohne Waschmittelzusatz mit Herpes-Virus-infiziertem Waschgut (3. Verschmutzungsgrad)

S:	6	17	19	25	39	49	64	67	69	87	138	161	169	186	306	352	500
1'20° Flotte ♂	10/10	2/10	2/10	2/10	1/10	1/10	1/10	0/10	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1'20° Wäsche ♂	10/10	6/10	6/10	5/10	5/10	4/10	3/10	3/10	3/10	2/10	2/10	1/10	1/10	1/10	1/10	1/10	1/10
15'40° Flotte ♂	10/10	3/10	0/10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
15'40° Wäsche ♂	10/10	9/10	9/10	8/10	6/10	6/10	4/10	4/10	3/10	3/10	3/10	2/10	2/10	0/10	—	—	—
5'80° Flotte ♂	12/15	9/15	9/15	9/15	9/15	9/15	9/15	9/15	9/15	9/15	9/15	9/15	9/15	9/15	9/15	9/15	9/15
5'80° Wäsche ♂	29/30	29/30	28/30	28/30	28/30	28/30	28/30	28/30	28/30	27/30	27/30	27/30	27/30	27/30	27/30	27/30	27/30
15'80° Flotte ♂	14/15	6/15	5/15	3/15	3/15	3/15	3/15	3/15	3/15	3/15	3/15	3/15	3/15	2/15	2/15	2/15	2/15
15'80° Wäsche ♂	30/30	29/30	29/30	29/30	29/30	29/30	28/30	28/30	27/30	27/30	26/30	26/30	25/30	24/30	23/30	22/30	22/30

Tab. 12: Waschprozeß unter Zusatz von Sunlicht-Stella-Seifenpulver mit Herpes-Virus-infiziertem Waschgut (3. Verschmutzungsgrad)

S:	pH	15-20	23	42	49	66	88	114	120	135	140	210	232	258	282	304	335	434	500
1'20° Flotte ♀	10	10/10	10/10	10/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	7/10	6/10	6/10	5/10	4/10	4/10	4/10	4/10	4/10	4/10
1'20° Wäsche ♀	10	9/10	9/10	9/10	9/10	8/10	8/10	8/10	8/10	8/10	8/10	7/10	6/10	5/10	4/10	4/10	3/10	3/10	3/10
15'40° Flotte ♀	10	10/10	10/10	10/10	10/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	8/10	8/10
15'40° Wäsche ♀	10	10/10	10/10	9/10	9/10	9/10	9/10	8/10	8/10	8/10	8/10	8/10	8/10	8/10	8/10	8/10	8/10	8/10	8/10
5'80° Flotte ♀	10	7/15	7/15	7/15	7/15	7/15	7/15	7/15	7/15	7/15	7/15	7/15	7/15	7/15	7/15	7/15	7/15	7/15	7/15
5'80° Wäsche ♀	10	30/30	30/30	30/30	30/30	29/30	28/30	28/30	28/30	28/30	28/30	28/30	27/30	27/30	27/30	27/30	27/30	27/30	27/30
15'80° Flotte ♂K	10	11/15	10/15	9/15	9/15	9/15	8/15	8/15	8/15	8/15	8/15	8/15	8/15	8/15	8/15	7/15	7/15	7/15	7/15
15'80° Wäsche ♂K	10	28/30	28/30	26/30	26/30	25/30	25/30	25/30	24/30	24/30	24/30	24/30	24/30	24/30	24/30	24/30	23/30	23/30	23/30

Zeichenerklärung: s. Tab. 9

K = Klarwäsche
pH = pH-Wert vor der Einstellung

Virus erfuhren keine Veränderung. Allerdings mußten vor der Injektion die Impfflüssigkeiten wegen ihres hochalkalischen pH-Wertes erst mit einer n/10 HCl neutralisiert werden. Die Nichtbeachtung dieser Vorsichtsmaßnahme führt erfahrungsgemäß in den meisten Fällen zu lokalen Gewebsschäden bei den Versuchstieren (88). Wegen dieser Gewebefeindlichkeit von Lösungen, die einen zu niedrigen oder sogar zu hohen pH-Wert haben, fordert BINGEL (10) grundsätzlich vor jedem Impfen eine Korrektur des pH-Wertes im Sinne einer Einstellung auf möglichst 7.

Die Tab. 12 zeigt mit 10 gestorbenen Versuchstieren der Waschgutproben bei 5´80° und nach der Klarwäsche bei 15´80° C weitgehend das gleiche Resultat wie der vorhergehende Waschprozeß mit einfachem Leitungswasser ohne Waschmittelzusatz. Grundsätzlich ist kein besserer Desinfektionseffekt erzielt worden. Lediglich hat die hohe Alkalität mit einem konstanten pH-Wert von 10 bei allen Tierkollektiven zu einer Abnahme der Zahl der eingegangenen Tiere geführt, jedoch nicht auf Grund einer thermischen Desinfektionswirkung durch Aufschlüsselung der Ballaststoffe, sondern offenbar infolge der relativ großen Empfindlichkeit der meisten Viren gegen extreme pH-Werte, auch im stark basischen Bereich. Durch das Impftrauma verloren wir keine Tiere.

GÖNNERT und BOCK (32) konnten nachweisen, daß gerade die Resistenz des Herpes-Virus bei zu niedrigen oder zu hohen pH-Werten viel stärker nachläßt, als es bei den meisten anderen Virusarten der Fall ist. So soll sich z. B. das EMC-Virus durch eine besonders geringe Empfindlichkeit bei extremen pH-Werten auszeichnen. Auch der dem Poliomyelitis-Virus verwandte Stamm Theiler hat nach Aussage der zitierten Autoren neben seiner relativ großen Stabilität gegen chemische und thermische Einwirkungen auch noch eine bemerkenswerte Virulenz in einem weiten pH-Bereich. - In dem Bemühen, unsere Versuche zu standardisieren, haben wir unabhängig von der individuellen pH-Empfindlichkeit des jeweiligen Virusstammes grundsätzlich alle für das Überimpfen verwandten Lösungen zur gleichen Zeit und in gleicher Weise, bezogen auf den jeweiligen Versuch, auf einen pH-Wert von 7 eingestellt.

Unser nächster Versuch beschreibt einen Waschprozeß mit sterilem Leitungswasser unter Zugabe von Sunex, Fettlöser und Nurpur-Seifennadeln. Die grundsätzliche Methodik wurde beibehalten. Bzgl. der Zugaben der einzelnen Waschsubstanzen hielten wir uns genau an die von der Firma

Sunlicht herausgegebenen Vorschriften. Demnach gelangten zur Vorwäsche 300 ml einer Lauge aus 5 g Sunex und 2 g Fettlöser pro 1000 ml Leitungswasser. Zur Klarwäsche verwandten wir 300 ml einer Lösung aus 2,5 g Sunex und 2,5 g Nurpur-Seifennadeln pro 1000 ml steriles Wasser. Der übrige Arbeitsgang fand hinsichtlich Größe der Tierkollektive, der Höhe der Infektionsdosis und dem Ausmaß des Verschmutzungsgrades in gleicher Weise statt wie bei C 2c. Die Tab. 13 zeigt eine Übersicht der Resultate des vorliegenden Tierversuches (s. S. 45).

Wie bei allen vorhergehenden Versuchen konnte auch durch den zuletzt beschriebenen Desinfektions-Waschprozeß keine befriedigende Inaktivierung des pathogenen Keimmaterials beobachtet werden. Selbst nach einer Expositionszeit von 5 min bei + 80° C hafteten an den Proben des Waschgutes noch genügend Viren, um 1/3 der Tiere aus einem Kollektiv von 30 weißen Mäusen zu infizieren. Auch nach einer Einwirkzeit von 15 min bei der gleichen Temperatur starben noch 16,6 % der geimpften Versuchstiere unter den typischen Herpes-Symptomen. Auch in den entsprechenden Flottenentnahmen war noch eine große Menge infektionstüchtigen Virusmaterials nachzuweisen. Ein Vergleich der Tabb. 11 und 13 läßt erkennen, daß der Zusatz von Sunex, Fettlöser und Nurpur-Seifennadeln zu der Waschflüssigkeit in keiner Weise den Desinfektionseffekt verbessert hat. Da aber auch allen bisher verwandten Zugaben keine eiweißspaltenden Fähigkeiten zugesprochen werden können, besteht hinreichend der Verdacht, daß die hohe thermische Resistenz der verwandten Virusarten ausschließlich auf ihre Umhüllung mit eiweißreichen Ballaststoffen zurückgeführt werden muß.

Wenn das der Fall ist, so muß das von der Firma Burnus propagierte Desinfektions-Waschverfahren mit Enzym 1500 in der Lage sein, einen vollen Desinfektionseffekt zu gewährleisten. Wenn dieser jedoch nicht eintritt, so bewirkt auch diese in der einschlägigen Literatur (3, 6, 7, 20, 36, 38, 39) als das bis auf den heutigen Tag als wirksamstes thermisches Desinfektionsverfahren bezeichnete Methode keine befriedigende Desinfektionswirkung. Die folgende Tab. 14 (s. S. 46) wird über diese Fragen Auf-

Tab. 13: Waschprozeß unter Zusatz von Sunex, Fettlöser und Nurpur-Seifennadeln mit Herpes-Virus-infiziertem Waschgut (3. Verschmutzungsgrad)

S:	pH	6	8	26	50	77	97	104	118	123	145	169	196	241	265	287	318	365	387	417	500
1'20° Flotte ♂	10	10/10	10/10	7/10	6/10	6/10	6/10	6/10	3/10	2/10	1/10	0/10	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1'20° Wäsche ♂	10	10/10	10/10	1/10	0/10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
15'40° Flotte ♂	10	7/10	6/10	5/10	3/10	3/10	3/10	3/10	3/10	3/10	3/10	3/10	3/10	3/10	3/10	3/10	3/10	3/10	3/10	3/10	3/10
15'40° Wäsche ♂	10	10/10	10/10	10/10	9/10	9/10	9/10	8/10	7/10	7/10	7/10	5/10	5/10	2/10	2/10	1/10	1/10	1/10	1/10	1/10	1/10
5'80° Flotte ♂	10	13/15	13/15	10/15	10/15	10/15	10/15	10/15	10/15	10/15	10/15	10/15	10/15	10/15	10/15	10/15	10/15	10/15	10/15	9/15	9/15
5'80° Wäsche ♀	10	29/30	27/30	25/30	25/30	25/30	23/30	23/30	22/30	22/30	22/30	22/30	22/30	22/30	22/30	21/30	20/30	20/30	20/30	20/30	20/30
15'80° Flotte ♂K	10	15/15	15/15	15/15	13/15	12/15	12/15	12/15	11/15	11/15	11/15	11/15	11/15	11/15	11/15	11/15	11/15	10/15	9/15	8/15	8/15
15'80° Wäsche ♀K	10	30/30	30/30	29/30	29/30	29/30	29/30	29/30	28/30	28/30	28/30	28/30	27/30	26/30	25/30	25/30	25/30	25/30	25/30	25/30	25/30

Tab. 14: Waschprozeß unter Zusatz von Enzym 1500, Olitexol und Telaplex mit Herpes-Virus-infiziertem Waschgut (3. Verschmutzungsgrad)

S:	pH	7	10	28	31	33	48	74	94	121	145	172	241	294	341	393	500
1'20° Flotte ♂	9,5	10/10	9/10	3/10	3/10	3/10	3/10	2/10	2/10	0/10	—	—	—	—	—	—	—
1'20° Wäsche ♂	9,5	10/10	10/10	3/10	3/10	3/10	2/10	1/10	1/10	0/10	—	—	—	—	—	—	—
15'40° Flotte ♂	8,5	9/10	9/10	8/10	2/10	2/10	1/10	1/10	1/10	1/10	0/10	—	—	—	—	—	—
15'40° Wäsche ♂	8,5	10/10	10/10	9/10	9/10	8/10	8/10	6/10	5/10	3/10	3/10	3/10	1/10	1/10	1/10	0/10	—
5'80° Flotte ♂	8,3	13/15	13/15	13/15	13/15	13/15	12/15	12/15	12/15	12/15	12/15	12/15	12/15	12/15	10/15	10/15	10/15
5'80° Wäsche ♀	8,3	29/30	29/30	29/30	29/30	29/30	29/30	29/30	29/30	29/30	28/30	26/30	26/30	25/30	25/30	25/30	25/30
15'80° Flotte ♂K	10	15/15	15/15	13/15	13/15	13/15	13/15	13/15	13/15	13/15	13/15	13/15	12/15	12/15	12/15	12/15	12/15
15'80° Wäsche ♀K	10	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	30/30	29/30	29/30	29/30

schluß geben. - Bei diesem Waschprozeß mit Zusatz von Enzym 1500, Olitexol, Telaplex und Nurpur-Seifennadeln hielten wir uns genau an die von der Firma Burnus herausgegebenen Vorschriften (20), die allerdings kaum von den bisher getroffenen Maßnahmen abwichen. Zur Vorwäsche gelangte das mit Viren verunreinigte Waschgut in eine vorgewärmte Waschflüssigkeit von + 37° C, die 2 g Enzym 1500 und 1,5 g Olitexol pro 1000 ml Leitungswasser enthielt. Vor Beginn der Klarwäsche gaben wir das infizierte Leinenläppchen in einen Kolben mit sterilem Wasser und spülten es unter ständigem Rühren 5 min lang (20). Zur Klarwäsche selbst benutzten wir 300 ml einer Waschlauge aus 3 g Telaplex und 2 g Nurpur-Seifennadeln auf 1 l steriles Leitungswasser. Die verwandten Waschsubstanzen waren vor dem Einbringen in den Waschkolben mit gespanntem Äthylenoxyd 20 min lang sterilisiert worden (54, 57).

Bei der Beobachtung der Tab. 14 fällt zunächst ein deutlicher Unterschied zwischen der Zahl der gestorbenen Tiere bei 5 min + 80° C und 15 min +80° C auf. Diese Angabe läßt den Schluß zu, daß ein eiweißspaltendes Desinfektionswaschverfahren nicht in der Lage ist, bei einer Expositionszeit von 5 min bei + 80° C virushaltige Verunreinigungen an Textilien zu desinfizieren. Auf der anderen Seite besagt der Tod von 5 weißen Mäusen aus einem Kollektiv von 30 Tieren nicht, daß das benutzte thermische Desinfektionsverfahren überhaupt keine inaktivierende Wirkung auf die eingeschlossenen Viren ausüben konnte (2). Jedenfalls muß nach der Einwirkung des Waschprozesses in der inokulierten Impfflüssigkeit noch genügend aktives pathogenes Material gewesen sein, um die Versuchstiere zu infizieren und unter den spezifischen Herpes-Symptomen sterben zu lassen. - Die mit der Wäscheentnahme bei 5 min + 80° C geimpften Tiere sind zu 96,7 % am Leben geblieben. Daß dieser Desinfektionserfolg nicht auf die bei der Klarwäsche benutzten Waschsubstanzen Telaplex und Nurpur -Seifennadeln zurückgeführt werden kann, geht aus der Versuchsserie 2d hervor. Entweder muß die geringe Menge von aktivem Virus auf die hohe Alkalität von pH = 10,0 der Waschflüssigkeit vor der Einstellung

mit n/10 HCl zurückgeführt werden, oder es sind durch den Klarspülprozeß vor der Klarwäsche die meisten von größeren Ballaststoffpartikeln umhüllten Viren vom Waschgut in die Spülflüssigkeit abgeschwemmt worden. Jedoch sind auch bei diesem Prozeß noch virushaltige Verunreinigungen an der Unterlage haften geblieben, wie die 4 positiven Tiere der beiden letzten Impfserien zeigen. Trotz dieser noch recht negativen Versuchsergebnisse muß dem letzten Verfahren doch die Fähigkeit einer partiellen Aufschlüsselung der eiweißhaltigen Ballaststoffe zugesprochen werden. Wie wir an Hand eigener Untersuchungen feststellen konnten, führt diese Eiweißspaltung durch Enzym 1500 bei Tuberkelbakterien und Staphylokokken zu praktischen Erfolgen. Ob diese Erfolge bei Viren wegen der ganz anderen Größenordnungen ausgeblieben sind, konnten wir nicht nachweisen. Jedenfalls besteht für diese Hypothese hinreichend der Verdacht, weil auch in fast allen Flottenentnahmen noch infektiöses Virus vorhanden war, ohne daß die mikroskopischen Flottenuntersuchungen, wie die entsprechenden Fotos am Anfang der Arbeit zeigen, bei den Waschprozessen mit Waschmittelzusätzen noch nachweisbare Hitzekoagula erkennen ließen.

Die nächste Versuchsserie stützt sich auf Beobachtungen an Experimenten mit dem Virusstamm Theiler. Die Methodik bzgl. der Auswahl der Tierkollektive, der Infektionsdosis und des Waschprozesses wurde beibehalten. Die ersten Untersuchungen stellten wir mit einem Waschverfahren mit einfachem, sterilen Leitungswasser an. Tab. 15 (s.S.49) gibt einen Überblick über die gewonnenen Resultate.

Zur Beurteilung der Tab. 15 muß noch gesagt werden, daß bei einem Tierkollektiv von nur 80 weißen Mäusen (pro Entnahme 10 Tiere) jedem Versuchstier 0,03 ml einer Verdünnung des infektiösen Substrates auf 10^{-2} intrazerebral überimpft wurden. Somit ist auch das fast "befriedigende" (2) Desinfektionsresultat nur eine Folge der geringen Infektionsdosis und des viel zu kleinen Tiermaterials. Da jedoch dieser und der folgende Waschversuch mit einfachem Seifenpulver als Zusatz zur Waschflüssigkeit nur als Parallelversuche zu 3c und d dienen sollten, ohne daß

Tab. 15: Waschprozeß ohne Waschmittelzusatz mit Theiler-Virus-infiziertem Waschgut (1. Verschmutzungsgrad)

S:	16	20	24	28	29	40	41	45	51	64	72	500
1'20° Flotte ♂	$^{10}/_{10}$	$^{10}/_{10}$	$^{9}/_{10}$	$^{7}/_{10}$	$^{6}/_{10}$	$^{1}/_{10}$	$^{1}/_{10}$	$^{1}/_{10}$	$^{0}/_{10}$	—	—	—
1'20° Wäsche ♂	$^{10}/_{10}$	$^{10}/_{10}$	$^{10}/_{10}$	$^{9}/_{10}$	$^{9}/_{10}$	$^{3}/_{10}$	$^{2}/_{10}$	$^{2}/_{10}$	$^{2}/_{10}$	$^{1}/_{10}$	$^{0}/_{10}$	—
15'40° Flotte ♂	$^{9}/_{10}$	$^{6}/_{10}$	$^{6}/_{10}$	$^{4}/_{10}$	$^{4}/_{10}$	$^{1}/_{10}$	$^{1}/_{10}$	$^{0}/_{10}$	—	—	—	—
15'40° Wäsche ♂	$^{9}/_{10}$	$^{8}/_{10}$	$^{8}/_{10}$	$^{4}/_{10}$	$^{4}/_{10}$	$^{1}/_{10}$	$^{1}/_{10}$	$^{0}/_{10}$	—	—	—	—
5'80° Flotte ♂	$^{10}/_{10}$	$^{10}/_{10}$	$^{10}/_{10}$	$^{10}/_{10}$	$^{10}/_{10}$	$^{10}/_{10}$	$^{10}/_{10}$	$^{10}/_{10}$	$^{10}/_{10}$	$^{10}/_{10}$	$^{10}/_{10}$	$^{10}/_{10}$
5'80° Wäsche ♂	$^{10}/_{10}$	$^{10}/_{10}$	$^{10}/_{10}$	$^{10}/_{10}$	$^{10}/_{10}$	$^{10}/_{10}$	$^{10}/_{10}$	$^{10}/_{10}$	$^{9}/_{10}$	$^{9}/_{10}$	$^{9}/_{10}$	$^{9}/_{10}$
15'80° Flotte ♂	$^{9}/_{10}$	$^{9}/_{10}$	$^{9}/_{10}$	$^{9}/_{10}$	$^{9}/_{10}$	$^{9}/_{10}$	$^{9}/_{10}$	$^{9}/_{10}$	$^{9}/_{10}$	$^{9}/_{10}$	$^{9}/_{10}$	$^{9}/_{10}$
15'80° Wäsche ♂	$^{10}/_{10}$	$^{10}/_{10}$	$^{10}/_{10}$	$^{10}/_{10}$	$^{10}/_{10}$	$^{10}/_{10}$	$^{10}/_{10}$	$^{10}/_{10}$	$^{10}/_{10}$	$^{10}/_{10}$	$^{10}/_{10}$	$^{10}/_{10}$

ihre Ergebnisse zu Aussagen über den Desinfektionseffekt herangezogen werden sollen, können wir in diesen beiden Durchgängen aus wirtschaftlichen und zeitlichen Gründen auf eine Vergrößerung der Tierkollektive und eine zusätzliche intramuskuläre Injektion verzichten.

Der zweite Versuch mit dem Theiler-Virus unter den gleichen Bedingungen, wie unter 3a beschrieben, erfolgte mit sterilem Leitungswasser unter Zugabe von Stella-Seifenpulver. Die Ergebnisse veranschaulicht Tab. 16.

Tab. 16: Waschprozeß unter Zusatz von Sunlicht-Stella-Seifenpulver mit Theiler-Virus-infiziertem Waschgut (1. Verschmutzungsgrad)

	T	I →						
S:	0-3	15	20	23	39	50	62	500
1'20° Flotte ♀	10/10	10/10	7/10	4/10	0/10	—	—	—
1'20° Wäsche ♀	9/10	9/9	9/9	9/9	1/9	1/9	0/9	—
15'40° Flotte ♀	8/10	8/8	8/8	7/8	7/8	6/8	6/8	6/8
15'40° Wäsche ♀	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
5'80° Flotte ♀	10/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10
5'80° Wäsche ♀	9/10	9/9	9/9	9/9	9/9	9/9	9/9	9/9
15'80° Flotte ♀K	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
15'80° Wäsche ♀K	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10

Zeichenerklärung: s. Tab. 9

pH-Wert = konstant 10

Unter Vernachlässigung der offensichtlich unzuverlässigen Versuchsbedingungen müßte nach Ansicht anderer Autoren (2) der Desinfektionserfolg mit "befriedigend" bezeichnet werden, da mit Ausnahme der durch

das Impftrauma infolge zerebraler Schädigungen eingegangenen Tiere keine Maus unter den für die Theiler-Infektion typischen Lähmungen der hinteren Extremitäten gestorben ist. Weil uns jedoch eine solche Aussage allzu zweifelhaft erscheint, sollen bei dem nächsten Versuch beide Verunreinigungsarten vom 1. und 3. Grad einander gegenübergestellt werden.

Tab. 17 (s. S. 52) zeigt eine Übersicht der Resultate aus dem Waschprozeß mit Leitungswasser und mehreren Waschmittelzusätzen bei einem Tierkollektiv von insgesamt 130 weißen Mäusen. Alle Tiere bekamen 0,03 ml der Injektionsflüssigkeit intrazerebral und 0,2 ml intramuskulär. Als einfachste Verunreinigungsmöglichkeit wählten wir pro Leinenläppchen 10 ml steril gewonnenes Meerschweinchenblut.

Die Tab. 17 (S. 52) läßt erkennen, daß selbst bei einer nur einfachen Beschmutzung des infizierten Waschgutes mit Blut als Repräsentant für organische Ballaststoffe die Wärmeempfindlichkeit der Keime so stark abnimmt, daß bei den Impfproben 5´ 80° und 15´ 80° noch 10 bzw. 4 Tiere unter neurotropen Erscheinungen zugrunde gingen. Allerdings liegt die Absterbequote vor dem Klarspülprozeß mit 33 1/3 % noch wesentlich über der nach der Klarwäsche mit 13 1/3 %. Diese Tatsache läßt den Schluß zu, daß diese Verbesserung des Desinfektionseffektes nicht auf die evtl. Abspaltung der Ballaststoffe oder auf eine besser zugängliche Hitzeeinwirkung, sondern auf die einfache mechanische Reinigung des infizierten Waschgutes durch das stetige Rühren in der Klarspülflüssigkeit zurückzuführen ist.

Im folgenden Versuch soll das gleiche Experiment nur mit einer Modifikation wiederholt werden. Diese besteht darin, daß wir nun wieder die Verunreinigung 3. Grades wählten, also die Belastung der Virussuspension auf dem Stoffläppchen mit Blut, Kot, Eiter, Albumin und Lecithin. Sämtliche Substanzen mit Ausnahme des Blutes, dessen virucide Kraft wir nicht beseitigen konnten, waren vorher absolut keimfrei gemacht worden (54, 57).

Im Vergleich zur Tab. 17 zeigt Tab. 18 (s. S. 53), daß mit der oben beschriebenen Methode ein etwas besserer Desinfektionseffekt erreicht wurde. Je-

Tab. 17: Waschprozeß unter Zusatz von Sunex, Fettlöser und Nurpur-Seifennadeln mit Theiler-Virus-infiziertem Waschgut (1. Verschmutzungsgrad)

S:	pH	10	28	47	52	57	76	98	125	145	316	500
1'20° Flotte ♀	10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10
1'20° Wäsche ♀	10	10/10	0/10	—	—	—	—	—	—	—	—	—
15'40° Flotte ♀	10	10/10	8/10	8/10	8/10	8/10	8/10	7/10	7/10	7/10	7/10	7/10
15'40° Wäsche ♀	10	10/10	10/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	8/10	8/10	8/10	8/10
5'80° Flotte ♀	10	13/15	13/15	13/15	13/15	12/15	12/15	12/15	12/15	12/15	11/15	11/15
5'80° Wäsche ♂	10	30/30	29/30	28/30	28/30	28/30	21/30	29/30	20/30	20/30	20/30	20/30
15'80° Flotte ♀K	10	14/15	14/15	14/15	13/15	12/15	11/15	11/15	11/15	11/15	11/15	11/15
15'80° Wäsche ♂K	10	30/30	30/30	29/30	29/30	29/30	29/30	28/30	27/30	20/30	20/30	20/30

Tab. 18: Waschprozeß unter Zusatz von Sunex, Fettlöser und Nurpur-Seifennadeln mit Theiler-Virus-infiziertem Waschgut (3. Verschmutzungsgrad)

S:	pH	11	13	16	17	19	50	67	70	74	96	114	120	167	235	305	500
1'20° Flotte ♂	10	8/10	7/10	4/10	2/10	2/10	1/10	1/10	1/10	0/10	—	—	—	—	—	—	—
1'20° Wäsche ♂	10	7/10	6/10	5/10	0/10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
15'40° Flotte ♂	10	9/10	8/10	6/10	3/10	2/10	2/10	2/10	2/10	2/10	2/10	2/10	2/10	2/10	2/10	2/10	2/10
15'40° Wäsche ♂	10	10/10	10/10	9/10	9/10	9/10	9/10	5/10	4/10	4/10	4/10	4/10	4/10	4/10	4/10	4/10	4/10
5'80° Flotte ♂	10	11/15	5/15	3/15	1/15	1/15	1/15	1/15	1/15	1/15	1/15	1/15	1/15	1/15	1/15	1/15	1/15
5'80° Wäsche ♂	10	30/30	29/30	28/30	28/30	28/30	28/30	27/30	27/30	27/30	27/30	26/30	25/30	24/30	23/30	23/30	23/30
15'80° Flotte ♂K	10	12/15	9/15	7/15	5/15	5/15	5/15	5/15	5/15	4/15	4/15	4/15	4/15	4/15	4/15	4/15	4/15
15'80° Wäsche ♂K	10	30/30	30/30	29/30	29/30	29/30	29/30	29/30	29/30	29/30	28/30	28/30	28/30	28/30	28/30	27/30	27/30

doch kann es sich hierbei nur um eine relative Aussage handeln, da sich das in diesem Falle angewandte Verfahren durch den Tod von 7 Versuchstieren bei 5´80° und 3 Mäusen bei 15 min und +80° C als ausgesprochen unzuverlässig erwiesen hat. Auch waren die Flottenentnahmen bei den entsprechenden Werten noch hochinfektiös. So betrug die Überlebensquote bei 5´80° nur 6,7 % und bei 15´80° C 26,7 %. Der Unterschied von 20 % läßt sich wahrscheinlich aus den mechanischen Einflüssen auf das Waschgut durch die Klarspülung erklären. - Wenn man von der Voraussetzung ausgeht, daß nach einer Expositionszeit von 5 min bei +80° C mit Sicherheit eine größere Menge von Viren inaktiviert ist als nach einer Einwirkzeit von 15 min bei +40° C, so ist auf Grund der Tatsache, daß im letzteren Falle relativ mehr Tiere aus dem Kollektiv starben als im ersteren, an der Tab. 18 mit besonderer Deutlichkeit abzulesen, wie wichtig die Wahl von großen Kollektiven bei Tierversuchen ist.

Beim letzten Desinfektions-Waschversuch mit dem Mäuseencephalomyelitis-Virus, Stamm Theiler, benutzten wir das Burnus-Verfahren mit Enzym 1500. Wir wählten dazu wiederum ein Kollektiv von 130 männlichen Albinomäusen und den 3. Verschmutzungsgrad. Auch hier überstanden sämtliche in den Versuch genommenen Tiere das Impftrauma ohne später auftretende letale cerebrale Störungen. Die Tab. 19 (s. S. 55) gibt einen Überblick.

Zur Beurteilung der Tab. 19 muß gesagt werden, daß das heute gebräuchlichste Desinfektions-Waschverfahren (6) nicht in der Lage ist, virushaltige Verunreinigungen aus eiweißhaltigen Exkreten auf Textilien in Zusammenhang mit einem thermischen Waschprozeß zu desinfizieren. 6 positive Tiere bei 5´80° und der Tod von 5 Mäusen bei 15´80° aus Kollektiven von jeweils 30 Versuchstieren sind der sichere Beweis für diese Aussage. Wir glauben, daß der Grund für diese negativen Resultate in Hitzekoagula mit Viruseinschlüssen bzw. in der Retention von Eiweißinseln in der Wäsche und - wie die Befunde der Tab. 19 zeigen - auch in der Flotte zu suchen ist. Wenn man auch vielleicht im günstigsten Falle von einer partiellen Desinfektionswirkung sprechen kann, so muß dennoch der Desinfektionseffekt nach unseren Ergebnissen als unzureichend bezeichnet werden.

Tab. 19: Waschprozeß unter Zusatz von Enzym 1500, Olitexol und Telaplex mit Theiler-Virus-infiziertem Waschgut
(3. Verschmutzungsgrad)

	S:	pH	24	27	49	54	69	74	97	120	166	218	269	500
1'20° Flotte	♂	10	1/10	1/10	1/10	1/10	1/10	1/10	0/10	—	—	—	—	—
1'20° Wäsche	♂	10	4/10	1/10	0/10	—	—	—	—	—	—	—	—	—
15'40° Flotte	♂	9	2/10	0/10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
15'40° Wäsche	♂	9	8/10	2/10	2/10	1/10	0/10	—	—	—	—	—	—	—
5'80° Flotte	♂	8,5	12/15	12/15	12/15	12/15	12/15	12/15	12/15	12/15	12/15	12/15	12/15	12/15
5'80° Wäsche	♂	8,5	30/30	30/30	30/30	30/30	29/30	29/30	28/30	26/30	25/30	24/30	24/30	24/30
15'80° Flotte	♂	10	14/15	14/15	12/15	12/15	12/15	12/15	12/15	12/15	11/15	11/15	11/15	11/15
15'80° Wäsche	♂	10	30/30	30/30	30/30	29/30	28/30	27/30	27/30	27/30	27/30	26/30	25/30	25/30

Tab. 20: Waschprozeß ohne Waschmittelzusatz mit EMC-Virus-infiziertem Waschgut (1. Verschmutzungsgrad)

S.:	18	50	66	69	71	74	89	92	95	102	114	121	137	500
1'20° Flotte ♂	10/10	10/10	9/10	7/10	7/10	7/10	6/10	6/10	6/10	4/10	2/10	1/10	1/10	1/10
1'20° Wäsche ♂	10/10	10/10	10/10	10/10	9/10	9/10	4/10	3/10	2/10	1/10	1/10	1/10	0/10	—
15'40° Flotte ♂	10/10	10/10	8/10	8/10	8/10	6/10	5/10	4/10	4/10	4/10	1/10	0/10	—	—
15'40° Wäsche ♂	10/10	10/10	8/10	7/10	7/10	7/10	3/10	1/10	1/10	0/10	—	—	—	—
5'80° Flotte ♂	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
5'80° Wäsche ♂	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10	10/10
15'80° Flotte ♂	10/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10
15'80° Wäsche ♂	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10	9/10

Als dritte Virusart testeten wir den Mäuseencephalomyocarditisstamm EMC. Da wir an Hand eigener Untersuchungen feststellen mußten, daß dieses Virus mit Ausnahme des Influenza-Virus die geringste Thermostabilität unter den uns zur Verfügung stehenden Stämmen aufwies, haben wir auf die wiederholte Durchführung aller thermischen Desinfektions-Waschversuche verzichtet und uns nur einem Modellexperiment zugewandt. Hierfür wählten wir ein Kollektiv von insgesamt 80 Tieren und die Verunreinigungsbedingung Nr. 1. Alle Mäuse waren männlich und überlebten das Impftrauma ohne Schäden. Die Injektionsdosis betrug 0,2 ml Impfflüssigkeit pro Tier subkutan unter die Nackenhaut.

Bei der Interpretation der Tab. 20 (s. S. 56) muß berücksichtigt werden, daß ein Tiermaterial von 80 Albinomäusen, die nur subkutan infiziert worden waren, und die Umkleidung des pathogenen Materials ausschließlich mit Blut als einfachstem Ballaststoff bei weitem nicht ausreicht, um eine Aussage über die Tiefenwirkung eines thermischen Desinfektions-Waschprozesses zu machen. Lediglich die Flotten- bzw. Waschgutentnahmen bei 15 min und + 80°C konnten noch jeweils ein Tier infizieren. Dieser positive Befund besagt aber nicht viel, zumal vor dem Klarspülprozeß nach Tab. 20 alles an dem Stoffläppchen haftende Virus inaktiviert war.

Da wir durch eigene Beobachtungen feststellen konnten, daß beim Desinfektions-Waschprozeß sowohl mit dem von der Firma Sunlicht angegebenen Verfahren mit Sunex, Fettlöser und Nurpur-Seifennadeln als auch mit dem Waschenzym 1500, Olitexol und Telaplex der Firma Burnus bakteriell verunreinigtes Waschgut desinfiziert wurde, daß andererseits aber Viren, die sich in Ballaststoffverunreinigungen auf Textilien befanden, durch die gleiche Versuchsanordnung nicht vollständig inaktiviert werden konnten, wollen wir an Hand einer Versuchsreihe mit dem wesentlich thermolabileren Influenza-Virus, A-Stamm PR8 (34), die gleichen Waschversuche wiederholen.

Hierfür ließen wir 94 Eier 10 Tage lang bei + 37,8° C im Brutschrank bebrüten. Bei der Befruchtungskontrolle am 5. Tag mußten 9 unbefruchtete

Eier eliminiert werden. Eine weitere Kontrolle am Morgen des 10. Tages zeigte, daß 8 Embryonen bereits abgestorben waren. Somit konnten 77 Eier zur Verarbeitung gelangen. - Während der Brutzeit ließen wir ununterbrochen Wasser im Brutschrank verdampfen, sodaß bei einer Temperatur von + 37,8° C ständig ein relativer Luftfeuchtigkeits-Sättigungswert von 46,2 g H_2O pro m^3 Luft vorlag. Alle Eier wurden vom ersten Tag des Bebrütens an in Abständen von 12 std um 180° gedreht.

Die Infektion des Läppchens erfolgte derart, daß jedes mit einer Größe von 4 mal 3 cm in 10 ml einer unverdünnten Allantoisflüssigkeit getränkt wurde, in der sich massenhaft Grippeviren vom A-Stamm PR 8 befanden. Anschließend wurde das Läppchen 2 std luftgetrocknet. Zur Behaftung mit Ballaststoffen wählten wir 10 ml direkt gewonnenes Meerschweinchenblut, 10 g Kot, 10 g eines Albumin-Lecithin-Gemisches und ca. 2 ml Eiter. Alle Substanzen waren vor dem Versuch 30 min sterilisiert worden (54, 57). In der Allantoisflüssigkeit befanden sich noch 500 I.E. Penicillin und 100 γ Streptomycin pro ml. Das so infizierte und beschmutzte Läppchen ließen wir noch 5 std bei 18° C an der Luft trocknen.

Der Waschprozeß selbst wurde mit sterilem Leitungswasser ohne Waschmittelzusatz durchgeführt. Da also in der Flotte keine eiweißspaltenden Substanzen vorhanden waren und wir den schwersten Verunreinigungsgrad wählten, lagen für diesen Versuch die schwierigsten Desinfektionsbedingungen vor. Die Stichproben von Waschgut und Waschflüssigkeit nahmen wir in folgenden Abständen vor:

1. Leerkontrolle des angetrockneten Läppchens
2. 5' 20° C : Probe des nassen Waschgutes
3. 5' 20° C : Flottenentnahme
4. 15' 40° C : Läppchenentnahme
5. 15' 40° C : Flottenentnahme
6. 15' 80° C : Läppchenentnahme
7. 15' 80° C : Flottenentnahme

Die Verarbeitung des Waschgutes und der Flottenproben bis zur Verimpfung auf die Eier erfolgte in der gleichen Weise wie bei den Tierversuchen. An jedem Ei markierten wir die Luftblase am oberen Pol und die benachbarte gefäßfreie Zone. Anschließend wurden die umrandeten Gebiete mit 96 %igem Alkohol abgewischt. Sowohl die Zone der Luftblase als auch die gefäßfreie Zone perforierten wir mit einem sterilen Stichel, sodaß zwei Öffnungen mit jeweils 1 mm Durchmesser entstanden.

Nach MAYR (64) ist die Chorioallantoismembranimpfung die am meisten benutzte Impfmethode. Wir wählten dazu das Verfahren ohne Fensterung, also ohne größere Öffnungen in der Eischale, da es leicht und schnell durchführbar ist. Außerdem besteht bei dieser Methode die geringste Gefahr einer Verunreinigung beim Impfvorgang selbst.

In jedes Ei gelangte 0,3 ml der jeweiligen Stoff- bzw. Flottenprobe. Um sicher zu sein, daß durch die Impfflüssigkeit nur Viren, nicht aber zusätzlich noch andere pathogene Keime übertragen wurden, gaben wir nach dem Beimpfen in jedes Ei außerdem noch 100 I.E. Penicillin und 40 γ Streptomycin. Zu diesem Zweck wurde der Inhalt einer Schmelzampulle Penicillin G-Natriumsalz "Göttingen" mit 10 000 I.E. in 20 ml Aqua dest. - steril aufgelöst, sodaß jetzt in 0,2 ml 100 I.E. enthalten waren. Der Streptomycinzusatz wurde folgendermaßen zugegeben: In einer Ampulle "Heyl" befindet sich 1 g Streptomycinsulfat. Wenn man diesen Ampulleninhalt in 10 ml Aqua dest. -steril auflöst, erhält man eine Stammlösung mit 100 mg Streptomycin pro ml. Hiervon gaben wir mit einer Tuberkulinspritze 0,04 ml zu den 20 ml Penicillin und Aqua dest. (s.o.) und erhielten dadurch eine Aqua dest. -Penicillin-Streptomycin-Lösung, die pro 0,2 ml 40 γ Streptomycin und 100 I.E. Penicillin enthält.

Vor dem eigentlichen Waschprozeß wurde mit der virushaltigen Leerkontrolle des angetrockneten Läppchens (S. 58, Nr. 1) eine Infektiositätskontrolle angesetzt. Dabei verdünnten wir die stark angereicherte Virussuspension von 10^{0} bis auf 10^{-6}. In das erste Glasröhrchen der Verdünnungsreihe gaben wir 5 ml der konzentrierten Probe aus dem Schüttelapparat. Die restlichen sechs Röhrchen wurden mit 4,5 ml phys. NaCl und jedesmal 0,5 ml der Flüssigkeit von der höher konzentrierten Substanz beschickt.

Nach der Beimpfung wurden die Eier wieder unter den üblichen Bedingungen dem Brutschrank übergeben; eine Drehung erfolgte dabei nicht mehr. Nach 24-stündigem Aufenthalt stellten wir alle in den Versuch genommenen Eier in den Eisschrank und beließen sie dort für 24 std bei + 3,5 °C. Hierauf schnitten wir jedes Ei an der Grenze der Luftblase auf und entnahmen pro Ei ca. 5 bis 10 ml Allantoisflüssigkeit. Davon benutzten wir 12 mal 0,2 ml für den nun folgenden HIRST - Test (35, 44) und gaben diese Mengen in die dazu erforderlichen 12 Röhrchen. Dabei wurde das erste mit 0,8 ml phys. NaCl bis auf 1 ml aufgefüllt, während in das 2. bis 12. Röhrchen nur jeweils 0,5 ml phys. Kochsalzlösung gelangten. Nach gründlichem Mischen mit der Pipette wurden von der Flüssigkeit des 1. Röhrchens 0,5 ml entnommen und in das zweite Gefäß gegeben usf., sodaß nach dem Pipettieren sich in jedem Hirst-Röhrchen 0,5 ml Flüssigkeit befanden. Darauf spritzten wir in jedes Gläschen 0,5 ml mit Natr. citr. versetztes Hühnerblut und ließen diese Ansätze 2 std stehen.

Nach dieser Zeit kam es zur Auswertung der Versuchsresultate. In den Proben, bei denen eine Hämagglutination der Hühnererythrozyten erfolgt war, muß noch lebendes, aktives Virus vorhanden gewesen sein (44, 64). Dabei können die Zahl der Infektionseinheiten und die Keimkonzentration aus der Höhe des Titers berechnet werden.

Die nachstehende Tab. 21 (s. S. 61) zeigt einen Überblick über die Numerierung der Eier und ihre Zugehörigkeit zu den verschiedenen Konzentrationsstufen und Flotten- bzw. Waschgutentnahmen. Die Ziffern in der obersten Reihe entsprechen den Stichproben Nr. 1 bis 7 auf Seite 57.

Zur Darstellung der Versuchsergebnisse wollen wir die gleiche Anordnung wie bei der Tab. 21 verwenden. Es werden lediglich die Zahlen weggelassen und an ihre Stelle die entsprechenden Resultate gesetzt.

Bei der Auswertung der Versuchsergebnisse sind zunächst die fettumrandeten Felder von Bedeutung (s. Tab. 22, S. 62). Bei der Leerkontrolle des angetrockneten Läppchens (Nr. 1), sehen wir das erste positive Ergebnis beim Ei Nr. 9, das mit einer Verdünnung von 1 : 100 der durch-

Tab. 21: Verteilung der Stichproben und ihrer Verdünnungen auf 77 geimpfte Eier

	1.			2.				3.				4.			
10^{0}	1	2	3	22	23	24	25	30	31	32	33	38	39	40	41
10^{-1}	4	5	6	26	27	28	29	34	35	36	37	42	43	44	45
10^{-2}	7	8	9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10^{-3}	10	11	12	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10^{-4}	13	14	15	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10^{-5}	16	17	18	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10^{-6}	19	20	21	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

	5.				6.				7.							
10^{0}	46	47	48	49	54	55	56	57	62	63	64	65	66	67	68	69
10^{-1}	50	51	52	53	58	59	60	61	70	71	72	73	74	75	76	77

Tab. 22: Waschversuch ohne Waschmittelzusatz mit Influenza-Virus-infiziertem Waschgut (1. Verschmutzungsgrad)

	1.			2.				3.				4.			
10^{0}	∅	∅	T	T	T	T	∅	T	∅	∅	T	T	T	T	T
10^{-1}	T	∅	T	(1-3) +	T	T	T	∅	∅	T	∅	T	T	T	T
10^{-2}	T	∅	(1-5) +	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10^{-3}	∅	∅	∅	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10^{-4}	∅	∅	∅	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10^{-5}	∅	∅	∅	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10^{-6}	∅	∅	∅	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

	5.				6.				7.							
10^{0}	T	T	T	T	T	T	T	∅	T	∅	∅	∅	∅	∅	T	∅
10^{-1}	(1-2) +	∅	∅	∅	T	T	∅	∅	T	∅	∅	∅	∅	T	T	∅

Zeichenerklärung:

∅ = negativer Befund: keine Agglutination von Hühnererythrozyten
T = Embryo bereits vor der Eröffnung des Eies gestorben
\+ = positive Hämagglutination mit Angabe der Verdünnung

die Zermörserung des infektiösen Waschgutes entstandenen Impfflüssigkeit infiziert worden war. Der Hirst-Test zeigt hier noch aktives Virus bis zu einer Verdünnung von 10^{-7}. Auch auf dem nassen Waschgut waren nach einer Expositionszeit von 5 min bei + 20° C noch lebende und vermehrungsfähige Influenza-Viren nachweisbar, wie das entsprechende Feld der Gruppe 2 zeigt. Eine Flottenentnahme bei 15´40° C (Nr. 5) enthielt ebenfalls noch aktives Virusmaterial. Bei den meisten Eiern kam es jedoch nicht zu einer Agglutination der Hühnererythrozyten, da sich kein pathogenes Material mehr in der Impfflüssigkeit befand. Bei fast 50 % aller Eier starb der Embryo noch vor der Eröffnung. Das Resultat der Tab. 22 läßt sich darin zusammenfassen, daß die für die übrigen Virusarten an Hand der Tierversuche gewonnenen Erkenntnisse für den Influenza-Virus-A-Stamm PR 8 keine Gültigkeit haben. Selbst bei ungünstigsten Voraussetzungen bzgl. des Verunreinigungsgrades und der Waschflottenzusätze konnte bei diesem einfachsten thermischen Desinfektions-Waschprozeß kein Versager nachgewiesen werden, zumal bei der von uns angewandten Versuchsanordnung die Virussuspension ungereinigt war, sodaß sich das Virus in einem sehr eiweißreichen Milieu befand (34).

III. Diskussion

Während über Fragen der thermischen Wäschedesinfektion bei bakteriell infiziertem Waschgut zahlreiche Untersuchungen vorliegen, finden sich zum gleichen Problem bei virusinfizierter Wäsche lediglich vereinzelte Experimente in der Literatur. Im Hinblick auf die Bedeutung dieser Frage wurden mit den in praxi gebräuchlichsten Methoden zur thermischen Wäschedesinfektion, nämlich dem Burnus-Verfahren mit Enzym 1500 und der Anwendung von synthetischen Fettlösern entsprechende experimentelle Untersuchungen vorgenommen. Zuvor interessierte jedoch die Frage, inwieweit die erwähnten Verfahren im Vergleich zu gewöhnlicher Wasserbehandlung bzw. normaler Seifenlauge-Waschung imstande sind, eiweißhaltige Verschmutzungen so weit zu lösen, daß infektiöses Material zur thermischen Desinfektion aufgeschlüsselt wird. Dieses schien uns im Hinblick auf frühere Untersuchungen mit tuberkulös infizierter und mit Staphylokokken-infizierter Wäsche besonders wichtig, da der Desinfektionseffekt hierbei in direkter Abhängigkeit vom umhüllenden Ballastmaterial stand.

Wir haben diese Untersuchungen in einer Vergleichsserie angesetzt, wobei stark mit Blut verunreinigte Leinenläppchen jeweils verschiedenen Waschprozessen unterworfen wurden, und zwar dem Burnus-Verfahren, dem von der Firma Sunlicht empfohlenen Verfahren und zur Kontrolle der Wäsche mit reinem Leitungswasser bzw. einer 0,8%igen Seifenlösung. An Hand vergleichender Stickstoffbestimmungen im Verein mit der alkoholischen Titration der Aminosäuren fanden wir, daß mit Hilfe des Enzymverfahrens eine weitgehende Entfernung des Eiweißes vom Waschgut erzielt wurde, wobei gleichzeitig eine hochgradige Spaltung der Proteine beobachtet werden konnte (Anstieg der Titrationswerte im Sinne der Zunahme freier Carboxylgruppen). Einen guten, wenn auch schwächeren Effekt erzielten wir mit dem von der Firma Sunlicht angegebenen Verfahren, bei welchem an Stelle des Enzyms synthetische Fettlöser verwendet wurden. Beide Kontrollen blieben hinter diesen Ergebnissen in ihrer Wirkung stark

zurück. Eine Zunahme des Stickstoffs (= Eiweiß) in der Waschflotte trat zwar ein, jedoch fehlte praktisch vollkommen eine Aufspaltung des Eiweißkörpers, was zur Folge hatte, daß im Verlauf des Waschprozesses bei der Erhitzung auf + 80° C dieser in Form von Koagulaten wieder ausfiel. Diese Befunde konnten wir auch optisch an Hand von Mikro- und Makroaufnahmen demonstrieren.

In Übereinstimmung mit diesen Befunden standen unsere Beobachtungen bei der Testung der Wirksamkeit des thermischen Desinfektionseffektes an virusinfiziertem Waschgut. Zur Verwendung kamen mäuseadaptierte neurotrope Virusstämme, und zwar ein Herpes-Stamm, ein Stamm des Encephalomyocarditis-Virus (EMC) und von dem Encephalomyelitis-Virus der Stamm Theiler, ebenso der Influenza A-Stamm PR 8 (eiadaptiert). Die Infektion der Läppchen geschah mit der 1 : 100 verdünnten Gehirn-Suspension, wobei das Waschgut einmal mit einem leichteren Verschmutzungsgrad (nur Blut) und zweitens mit einem schwereren Verschmutzungsgrad (Blut, Kot, Eiter, Albumin und Lecithin) zusätzlich belastet wurde. Die so infektiös gemachten und verschmutzten Stoffproben unterzogen wir den oben erwähnten Waschprozessen mit strenger Einhaltung der verschiedenen Anheiz- und Spülphasen. Zu den verschiedenen Zeiten entnahmen wir sowohl Teile der Stoffproben als auch bestimmte Mengen der Flotte und prüften sie durch Verimpfung auf Kollektive von mindestens 10 Tieren. Bei einigen Stichproben erhöhten wir die Zahl der Tiere pro Kollektiv auf 30. Das zur Inokulation vorgesehene Material wurde vor der Verimpfung, soweit notwendig, pH-neutralisiert.

Sieht man von dem orientierenden Test mit dem Influenza A-Stamm ab, bei welchem wir schon von einer Erhitzung des Waschgutes auf über + 40° C ab keine lebenden Viren mehr nachweisen konnten, so fand sich in keiner der anderen Versuchsserien ein ausreichender thermischer Desinfektionseffekt vor. Weder mit dem Enzym-Verfahren, das an sich noch die günstigste Inaktivierungsquote aufwies, noch mit dem Sunex-Verfahren war eine komplette Inaktivierung der Viren im Verlauf des Waschprozesses an dem infizierten Material eingetreten. Sowohl das Waschgut als

auch die Flotte erwiesen sich im Tierversuch auch nach Abschluß des Waschprozesses noch als infektiös.

IV. Zusammenfassung

Es wurde experimentell das Eiweißabtragungs- und -spaltungsvermögen bei verschiedenen Waschverfahren untersucht, wobei als Testobjekt blutverunreinigte Stoffproben herangezogen wurden. Stickstoffbilanzen und alkoholische Titrationen der Aminosäurekarboxyle vor, während und nach den Waschprozessen gaben Aufschluß über den Grad der Abtragung und der Spaltung des Ballaststoffes bei Waschvorgängen mit Leitungswasser, Seifenlauge und speziellen proteolytisch wirksamen Desinfektionswaschverfahren. Sodann wurden diese Waschverfahren auf ihren Desinfektionseffekt gegenüber virusinfiziertem Waschgut geprüft. Zur Verwendung kamen Herpes-, Theiler-, EMC- und Influenza-Viren in geringer und starker Ballaststoffverunreinigung. Bei geringem Verschmutzungsgrad zeigten die Waschverfahren eine gute Wirkung; bei ausgeprägter Ballaststoffmenge war der Desinfektionseffekt aller geprüften Waschverfahren unzureichend.

Nach Abschluß der experimentellen Untersuchungen und ihrer Auswertung ist es mir eine angenehme Pflicht, dem Direktor des Hygienischen Institutes der Universität Mainz, Herrn Prof. Dr. med. Heinrich KLIEWE, für die Überlassung des Arbeitsplatzes meinen herzlichen Dank auszusprechen.

Für die freundliche Übernahme der Dissertation bin ich dem Direktor des Hygiene-Institutes der Universität Tübingen, Herrn Prof. Dr. med. Richard-Ernst BADER, sehr zu Dank verpflichtet.

Herrn Oberarzt Privat-Doz. Dr. med. E. von WASIELEWSKI danke ich für die Überlassung des Themas und die vielen Hinweise und Anregungen während der Untersuchungszeit.

Außerdem bin ich der medizinisch-technischen Assistentin, Fräulein M. SCHUSTER, für ihre hilfsbereite Unterstützung bei den Tierversuchen und dem Laboranten, Herrn B. GLÜCKERT, für die Anfertigung der photographischen Aufnahmen dankbar.

Literatur

1. Albrecht, J.: Untersuchungen über die chemische Inaktivierung von EMC- und Herpes-Viren. Z. Hyg. 145/5/6, 333 (1957)

2. Derselbe u. T. Lammers u. E. v. Wasielewski: Zur chemischen Wäschedesinfektion bei Viruskrankheiten. Zbl. Bakter. I Orig. 170, 531-537 (1957)

3. Arzt, G.H.: Die Verwendung von Enzym im modernen Desinfektions-Waschverfahren. Prakt. Desinfektor, Berlin 48 /3, 33-36 (1956)

4. Bateman, J.B. and M.S. Davis and P.A. Mc Caffrey: A note on the reaction of the heated influenza virus protein with red blood cells. Amer. J. Hyg. 62 /3, 349-354 (1955)

5. Bauer, D.J.: The nature of viruses. Brit. Med. J. 808 (1957 / II.)

6. Bien, F.: Thermische Wäschedesinfektion. Anstaltsumschau 25, 217-221 (1956)

7. Derselbe: Zur Desinfektion von Krankenhauswäsche. Krankenhaus-Umschau 27, 558-560 (1958)

8. Bingel, K.F.: Ein Beitrag zur Methodik der Desinfektionsprüfung bei Viren. Z. Hyg. 137/2, 126-129 (1953)

9. Derselbe: Die experimentelle Virusdesinfektion. Aus: Beiträge zur Hygiene und Epidemiologie. H. 10; Leipzig 1957

10. Derselbe u. H. Engelhardt: Experimentelle Studien zur Expositionsprophylaxe der Poliomyelitis. I. Desinfektion der Ausscheidung Kranker. Z. Hyg. 138, 101-108 (1953)

11. Dieselben: Experimentelle Studien zur Expositionsprophylaxe der Poliomyelitis. III. Möglichkeiten der Unschädlichmachung des Virus auf Lebensmitteln mittels Hitze. Z. Hyg. 138, 118-122 (1953)

12. Bock, M.: Zur Thermoresistenz der Viren. Arzneim.-Forsch. 6/9, 527-531 (1956)

13. Bolt, W. u. O. Küchenhoff u. T. Küchenhoff: Experimentelle Studien zur Frage der Viraemie nach Infektion mit Influenzavirus. Aerztl. Wschr. 8/17, 405-407 (1953)

14. Borchardt, W.: Möglichkeiten des Virusnachweises. Land- und forstwirtsch. Ztg. 110/15, 524 f (1957)

15. Bourdillon, J.: Heat inactivation of the murine strain of SK-poliomyelitis virus. Arch. Biochem. 3, 299-303 (1943)

16. Brandis, H.: Desinfektion und Sterilisation. Med.-Kal. 76, 710-715 (1955)

17. Broda, E. u. G. Wüstinger: Versuch des radiochemischen Nachweises von Viruswachstum außerhalb lebenden Gewebes. Naturwissenschaften 43/13, 305-306 (1956)

18. Bulling, E.: Die Züchtung des Tollwutvirus im Hühnerei. Zbl. Bakter. I Orig. 167, 1-9 (1956)

19. Burnet, F.M.: Über die Hämagglutination und Genetik des Grippevirus. Dtsch. med. Wschr. 79, 737-739 (1954)

20. Burnus G.m.b.H.: Das biothermische Desinfektions-Waschverfahren, Enzym 1500. Darmstadt 1953, S. 8

21. Chiari, H.: Zur Kenntnis der Encephalomyocarditis. Wien. klin. Wschr. 64/35/36, 653-655 (1952)

22. Davis, B.D.: Principles of sterilization. Philadelphia, Montreal, London 1948

23. Drees, O.: Desinfektion bei Viruserkrankungen. Berl. Ges. blatt 5, 81 (1954)

24. Derselbe: Zur Frage virusinaktivierender Desinfektionsmittel. Aerztl. Praxis, München 6/13, 7 f (1954)

25. Elste, E.R.: Die Beschaffenheit der Viren. Med. Mschr., Stuttgart 11/9, 573 f (1957)

26. Frobisher, M.: Fundamentals of microbiology. 6. Ed., Philadelphia 1953

27. Gädeke, R.: Analytische Studie über die Absterbeordnung weißer Mäuse nach experimenteller Infektion mit dem MM-Virus. Naturwissenschaften 42/8, 216 f (1955)

28. Gönnert, R.: Über Virusmorphologie und Virusvermehrung. Behringwerk-Mitt., Marburg H. 25, 61-91 (1952)

29. Derselbe: Abtötung von Viren. Aerztl. Praxis 7/55, 12 (1955)

30. Derselbe: Über die Chemo- und Thermoresistenz der Viren. Therapeutische Ber., Leverkusen 30, 188-193 (1958)

31. Derselbe u. M. Bock: Zur Resistenz von Viren. Z. Hyg. 141, 60-63 (1955)

32. Derselbe u. M. Bock: Zur Chemoresistenz der Viren. Arzneim.-Forsch. 6/9, 522-527 (1956)

33. Grafe, A. u. H.G. Hausmann: Über eine für die Desinfektionsmittelprüfung optimal geeignete Methode zur Züchtung des Influenza-,Mumps- und Newcastle-Virus im Allantoissack des Hühnerembryos. Z. Hyg. 143/4, 343-354 (1956)

34. Habs, H.: Prüfung der viruciden Eigenschaften des Präparates V·11·G gegen Grippevirus. Gutachten vom 31.10.1953, Heidelberg

35. Hallauer, C.: Die Hämagglutination durch Virusarten. (Phänomen von G.K. Hirst). Handb. Virusforsch. 2. Ergänz. bd. 141-220 (1950)

36. Harmsen, H. u. H. Arzt u. F. Bien: Die Wäschedesinfektion: ein hygienisches, klinisches und textilfachliches Problem. Krankenhaus 47/2, 60-63 (1955)

37. Hausmann, H.G. u. A. Grafe: Desinfektion des Influenza-, Mumps- und Newcastle-Virus im eiweißfreien Medium. Z. Hyg. 143/3, 278-304 u. 304-318 (1957)

38. Heicken, K. u. H. Effenberger u. W. Patten: Ist die thermische Wäschedesinfektion ein Problem für die Praxis? Krankenhaus 47/8, 295-297 (1955)

39. Heicken, K.: Desinfektion und Sterilisation im Krankenhaus. Prakt. Desinfektor, Berlin 50/6, 81-85 (1958)

40. Heimann, H.: Wirtschaftlichkeit der thermischen Wäschedesinfektion. Krankenhausumschau 27, 109-113 (1958)

41. Hennessen, W.: Wie wird virushaltiges Material desinfiziert? Dtsch. med. Wschr. 81/6, 210 (1956)

42. Herzberg, K.: Die Viruskrankheiten und Infektionen ungeklärter Ätiologie. I. Einleitende Gedanken über Viruskrankheiten und ihre Erreger. Aus: Gundel, M.: Die ansteckenden Krankheiten. 4. Aufl., Stuttgart 1950, S. 956-980

43. Hinsberg, K. u. K. Lang: Medizinische Chemie. 2. Aufl., München - Berlin 1951

44. Hirst, G.K.: Adsorption of influenza hemagglutinins and virus by red blood cells. J. exp. Med. 76, 195-209 (1942)

45. Houben, J. u. T. Weyl: Methoden der organischen Chemie. Bd. II. Analytische Methoden. 4. Aufl., Stuttgart 1953

46. Jochheim, K.-A. u. M. Koch: Das Virus des Herpes simplex und das Nervensystem.
Fortschr. Neurol. 24/11, 579-609 (1956)

47. Julianelle, L.A. and R.W. Harrison: Studies on the infectious agent of inclusion blennorrhea.
II. Expressional transmission.
Amer. J. Ophth. 3/21, 1137-1147 u. 1230-1241 (1938)

48. Jungeblut, C.W.: Biological changes in Theiler's virus of spontaneous mouse encephalomyelitis.
Amer. J. Publ. Health, Albany 33, 1227-1243 (1943)

49. Kikuth, W. u. M. Bock u. R. Gönnert: Untersuchungen zur Kollidonwirkung bei Viren.
Zschr. Naturforsch., Tübingen B 3/9/10 342-345 (1948)

50. Kliewe, H.: Desinfektion, Sterilisation und Entwesung in ihrer Bedeutung für die Seuchenbekämpfung.
Aus: Gundel, M.: Die ansteckenden Krankheiten.
4. Aufl., Stuttgart 1950, S. 956-980

51. Derselbe: Desinfektion und Sterilisation.
Fiat review of German science (Naturforschung und Medizin in Deutschland 1939 - 1946)
Abt. Hyg. Teil II, Bd. 67

52. Derselbe: Desinfektion und Sterilisation.
Aus: Esmarch's hygienisches Taschenbuch.
6. Aufl., Berlin-Heidelberg 1950

53. Derselbe: Leitfaden der Entseuchung und Entwesung.
3. Aufl., Stuttgart 1951

54. Derselbe u. T. Lammers: Keimtötende Eigenschaften des Äthylenoxydes.
Prakt. Desinfektor, Berlin 5, 51 f (1956)

55. Köhler, H.R.: Über die Pathogenese der Influenzainfektion des Hühnerembryos nach Virusinjektion in die Allantoishöhle.
Zbl. Bakter. I Orig. 163/2/3, 92-117 (1955)

56. Kühn, O.: Allgemeines über Viren.
Heilberufe 9, 174-178 (1957)

57. Lammers, T. u. R. Gewalt: Ein neues Sterilisationsverfahren mit gespanntem Äthylenoxyd.
Z. Hyg. 148, 350-358 (1958)

58. Lawson, R. B. and J. L. Melnick: Inactivation of murine poliomyelitis viruses by heat.
J. Infect. Dis. 80, 201-209 (1947)

59. Lehmann-Grube, F.: Die Viren der Enzephalomyocarditisgruppe und ihre Bedeutung für Erkrankungen des Menschen.
Fortschr. Neurol. 25/5, 265-297 (1957)

60. Lépine, P. et V. Sautter: Inactivation des virus par l'action combinée de deux agents inactivants employés à doses ménagées.
Acad. scienc. 244/2, 2200 f (1957)

61. Lwoff, A.: The concept of viruses.
J. Genr. Microbiol. 17/1, 239-253 (1957)

62. Marxer, A.: Recherches de substances actives contre les virus.
Naturwissenschaften 43/12, 282 f (1956)

63. Maurer, T.: Thema Infektionswäsche.
Wäscherei 2, 236 (1957)

64. Mayr, A.: Zur Viruszüchtung im bebrüteten Hühnerei. II. Teil, 3. Virusanzuchtmethoden.
Röntgen-Laborat. praxis, Stuttgart 8/3, 74-87 (1955)

65. Derselbe: Aktuelle Probleme der angewandten Virusforschung in der Medizin.
Mhefte Vet. med., Leipzig 11, 627-633 (1957)

66. Mc Culloch, E. D.: Disinfection and sterilization.
2. Ed., Philadelphia 1945

67. Müller, R.: Medizinische Mikrobiologie.
4. Aufl., München - Berlin 1950

68. Peters, D.: Virusmorphologie.
Therap. Ber., Leverkusen 30, 159-166 (1958)

69. Pette, H. u. O. Drees: Gutachten vom 20.11.1953 über das Präparat V·11·G der Fa. Schülke & Mayr, Hamburg.

70. Putnam, F.W.: Biochemistry of viruses. Inactivation and disruption.
Annual Rev. Biochem. 25, 147-176 (1956)

71. Roemer, G.B.: Desinfektion und Sterilisation bei Virusinfektionen.
Dtsch. med. Rdsch. 43/3, 1215-1218 (1949)

72. Ryshkow, W.L.: Physiologie der Viren.
Sowjetwissenschaft (Naturwiss. Abt.)
1, 629-634 (1955)

73. Schmidt, B. u. G. Brand: Probleme der Virusdesinfektion und der Prüfung von Desinfektionsmitteln auf Viruzidie.
Zbl. Bakter. I Orig. 164/6/7, 514-523 (1955)

74. Schramm, G.: Die Biochemie der Viren.
5. Aufl., Berlin - Göttingen - Heidelberg 1954.

75. Schulz-Ehlbeck, H.W.: Untersuchungen über die Virucidie von Desinfektionsmitteln.
Aerztl. Forsch., Wörishofen I. Orig.
8/12, 556-560 (1954)

76. Derselbe: Ein Beitrag zur Frage der Virusinaktivierung.
Klin. Wschr. 31/21/22, 527 (1953)

77. Schwarzkopf, H.E. u. E. Treuhoff: Neue Wege in der Behandlung infizierter Krankenhauswäsche.
Wäscherei 2, 109 (1955)

78. Siegert, R. u. E. Mannweiler u. E. Oldenburg: Erfahrungen mit der Viruszüchtung im exembryonierten Brutei.
Arch. Hyg. 138, 1-11 (1954)

79. Smith, K.M.: What is a virus?
Times Science Rev. 19, 3-6 (1956)

80. Stüpel, H.: Laboratoriumswaschversuche mit synthetischen Rohstoffen und Waschmitteln. I. Vergleich künstlicher Beschmutzungsarten an bekannten Testgeweben. Fette u. Seifen 54/3, 143-147 (1952)

81. Sykes, G.: Methods of disinfection and sterilization. Rep. Progr. appl. Chem. 40, 798-806 (1955)

82. Derselbe: Disinfection. J. Pharmacy Pharmacol., London 7/9, 551-579 (1955).

83. Syverton, J.T. and G.A. Garabedian and J. Friedman: Studies on herpes simplex virus. III. The effects of roentgen radiation, cortisone and gastric mucin upon the infectivity of herpes simplex virus for laboratory mice. J. Infect. Dis. 96/1, 9-13 (1955)

84. Trask, J.D. and A.J. Vignec and J.R. Paul: Poliomyelitis virus in human stools. J. Amer. Med. Ass. 111, 6-11 (1938)

85. Ühlein, E.: Wesen und Wirkung der Viren. Materia med. Nordmark 8/9, 334-337 u. 392-447 (1956)

86. Verlinde, J.D. en E. Nihoul: De uitscheidung van poliomyelitisvirus door gezonde contactpersonen. Ned. tschr. geneesk. 94, 1186-1195 (1950)

87. Warren, J. Viruses of the encephalomyocarditis group. Ann. N.Y. Acad. Sc. 56, 609-611 (1953)

88. Wasielewski, E. v.: Mündl. Mitteilung.

89. Wecker, E.: Über Aufbau, Chemie und Funktion von Virusarten. Therap. Ber., Leverkusen 30, 166-173 (1958)

90. Weil, B.: Thermale Inaktivierung von zwei Pflanzenviren. Ein Beitrag zur Wärmetherapie pflanzlicher Viruskrankheiten. Phytopathol. Zschr. 31, 45-78 (1958)

91. Williams, R.C.: Relations between structure and biological activity of certain viruses. Proc.Nat.Acad.Sc. 42/10, 811-819(1956)

92. Willstätter, R. u. E.Waldschmidt-Leitz: Titration der Aminosäuren in alkoholischer Lösung. Ber.dtsch.chem.Ges. 54, 2988 f (1921)

93. Wittenberger,W.: Chemische Laboratoriumstechnik. 5.Aufl., Wien 1957

94. Wolman, M.: The nature of viral inclusion bodies and their differentiation from non-viral inclusions. Experientia, Basel 11/1, 22-24 (1955)

Meine akademischen Lehrer waren:

in Münster:

Becher, Brettschneider, Caspers, Eichner, Erhardt, Fischer, Issel, Kappler, Klemm, Knoche, Lehnartz, Lerche, Menne, Micheel, Müller-Limmroth, Pauleikhoff, Pieper, Rauen, Rensch, Rothschuh, Schratz, Schütz, Strugger, v. Verschuer.

in Paris:

Brouet, Busser, Cauhépé, Coste, Dechaume, Delarne, Franquelle, Lenègre, Quénu, Scebat.

in Marburg:

Beckmann, Bock, Förster, Grill, Gross, Hamm, Hartmann, Hennis, Heuser, Hildebrandt, Hornung, Huber, Janke, Lang, Linneweh, Linzbach, Müller, Prinz, Schmid, Schwaiger, Schweckendiek, Siegert, Würterle.

in Tübingen:

Bader, Bauer, Beller, Bennhold, v. Brunn, Dick, Fischer, Fröhlich, Gohrbandt, Gottron, Harms, Heni, Hirschmann, Kiese, Körber, Korting, Kossel, Kretschmer, Kreuz, Kröncke, Letterer, Missmahl, Nitschke, Probst, Pulewka, Roemer, Schubert, Schulte, Schwarz, Tonutti, Volke, Zeh.

L e b e n s l a u f

Am 7. November 1936 wurde ich, Wolfgang Rhaban Elmar Koberg, als Sohn des prakt. Zahnarztes Dr. med. dent. Friedrich Koberg und seiner Ehefrau Anna geb. Fehling zu Beckum Bez. Münster geboren.

Ab Herbt 1944 besuchte ich die katholische Volksschule zu Beckum. Nach einer zweieinhalbjährigen Elementarschulzeit war ich von Ostern 1947 bis zum 3. 3. 1956 Schüler der altsprachlichen Abteilung des Städt. Gymnasiums zu Beckum. Nach bestandener Reifeprüfung studierte ich vom Sommersemester 1956 bis einschließlich Sommersemester 1958 an der Westfälischen-Wilhelms-Universität zu Münster Medizin und Zahnheilkunde. Durch eine ministerielle Sondererlaubnis wurde es mir ermöglicht, bereits im fünften Semester zur ärztlichen und zahnärztlichen Vorprüfung zugelassen zu werden. Beide Physika bestand ich am 30. Juli bzw. 15. August 1958 mit dem Gesamturteil "gut". Im Wintersemester 1958/59 studierte ich an der Universität von Paris im ersten klinischen Fachsemester Medizin und Zahnheilkunde. Im Sommersemester 1959 war ich an der Philipps-Universität in Marburg a. d. Lahn immatrikuliert. Für die Zeit der restlichen vier klinischen Semester besuchte ich die Eberhard-Karls-Universität in Tübingen und bestand dort am 18. Dezember 1961 das medizinische Staatsexamen mit der Note "sehr gut". Nach dem Sommersemester 1962 beabsichtige ich, das zahnmedizinische Staatsexamen abzulegen. Seit dem 1. Januar 1962 bin ich als Medizinalassistent in der Hals-, Nasen-, Ohrenklinik Tübingen beschäftigt.

Fotodruck Frau Elly HUTH Tübingen